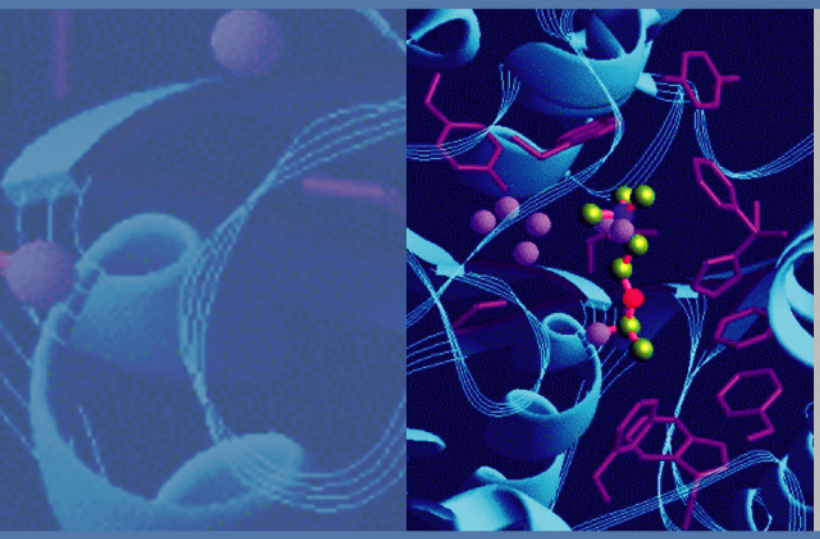


TSQ Series

Guide de démarrage rapide

70111-97172 Révision C juin 2010

DOCUMENTATION SURVEY

Part of Thermo Fisher Scientific

Thermo SCIENTIFIC

©2010 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés.
Les marques suivantes sont déposées aux États-Unis et éventuellement dans d'autres pays :
TSQ Quantum est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific Inc. Windows est une marque déposée de Microsoft Corporation. Tygon est une marque déposée de Saint-Gobain Performance Plastics Co. Unimetrics est une marque déposée de SGE International Pty. Ltd. Corp. Teflon est une marque déposée de E. I. du Pont de Nemours & Co. Rheodyne et RheFlex sont des marques déposées de Rheodyne, L.P.

PEEK est une marque commerciale de Victrex plc.

Les autres marques déposées sont des marques commerciales ou déposées de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.

Thermo Fisher Scientific Inc. fournit le présent document à ses clients lors de l'achat d'un produit pour qu'ils puissent s'y reporter dans le cadre de l'utilisation de celui-ci. Ce document est une oeuvre protégée par les lois en vigueur sur la propriété intellectuelle. Sa reproduction, partielle ou intégrale, est interdite sans l'accord écrit de Thermo Fisher Scientific Inc.

Le contenu de ce document peut être modifié sans préavis. Toutes les informations techniques contenues dans le présent document sont fournies à titre de référence uniquement. Les configurations et spécifications qui y sont indiquées prévalent sur toute autre information précédemment communiquée à l'acheteur.

Par ailleurs, Thermo Fisher Scientific Inc. ne garantit pas l'exhaustivité, l'exactitude des informations fournies, ni que le présent document est exempt d'erreur et décline toute responsabilité pour les erreurs, omissions, dommages ou pertes liés à l'utilisation de ce document, même dans le cas où les instructions qu'il contient seraient scrupuleusement respectées.

Ce document ne fait pas partie intégrante d'un quelconque contrat de vente passé entre Thermo Fisher Scientific Inc. et un acheteur. Ce document ne régit ou ne modifie en aucune manière les Conditions de vente, lesquelles régissent la résolution de tous les conflits pouvant survenir entre ces deux documents.

Historique de la version : Révision A publiée en avril 2008 ; Révision B publiée en mars 2009, Révision C publiée en juin 2010.

Ressources logicielles : Xcalibur 2.1, TSQ 2.1

Usage exclusivement réservé à la recherche. Non réglementé pour un usage de diagnostic médical ou vétérinaire par la FDA (Federal Drug Administration) américaine ni aucune autre autorité compétente.

Conformité réglementaire

Thermo Fisher Scientific soumet ses produits à une série de tests et une évaluation complète afin de s'assurer de leur conformité totale aux réglementations locales et internationales. Une fois le système livré, il répond aux exigences de l'ensemble des normes de sécurité et de compatibilité électromagnétique (CEM), telles que décrites ci-dessous.

Toute modification apportée à l'instrument peut annuler sa conformité avec une ou plusieurs de ces normes de sécurité et de compatibilité électromagnétique (CEM). Les modifications concernées incluent le remplacement d'une pièce ou l'ajout de composants, d'options ou de périphériques non spécifiquement autorisés et qualifiés par Thermo Fisher Scientific. Pour assurer la conformité durable de l'instrument aux normes CEM et de sécurité, commander les pièces de rechange et les composants, options et périphériques supplémentaires auprès de Thermo Fisher Scientific ou de l'un de ses représentants agréés.

- TSQ Quantum Access MAX
- TSQ Quantum Ultra
- TSQ Vantage
- TSQ Quantum Access

TSQ Quantum Access MAX

Directive CEM 2004/108/CEE

La CEM a été évaluée par l'organisme de certification TUV Rheinland of North America, Inc.

EN 55011 : 2007, A2 : 2007
EN 61000-3-2 : 2006
EN 61000-3-3 : 1995, A1 : 2001, A2: 2005
EN 61000-4-2 : 1995, A1 : 1999, A2: 2001
EN 61000-4-3 : 2006
EN 61000-4-4 : 2004
EN 61000-4-5 : 2005
EN 61000-4-6 : 2007
EN 61000-4-11 : 2004
EN 61326-1 : 2006

FCC Classe A : CFR 47 Partie 15 : 2007

Conformité aux normes de sécurité relatives aux basses tensions

Cet appareil est conforme à la directive 2006/95/CE de l'Union Européenne mise en œuvre par 61010-1 : 2001.

TSQ Quantum Ultra

CEM - Directive 89/336/CEE modifiée par les directives 92/31/CEE et 93/68/CEE

La compatibilité électromagnétique (CEM) a été évaluée par l'organisme de certification U.L. Underwriter's Laboratory Inc.

EN 55011 : 1998	EN 61000-4-4 : 1995, A1 : 2001, A2 : 2001
EN 61000-3-2 : 1995, A1 : 1998, A2 : 1998, A14 : 2000	EN 61000-4-5 : 1995, A1 : 2001
EN 61000-3-3 : 1998	EN 61000-4-6 : 2001
EN 61000-4-2 : 2000	EN 61000-4-11 : 1994, A1 : 2001
EN 61000-4-3 : 2002	EN 61326-1 : 1998
FCC Classe A, CFR 47 Partie 15 : 2005	CISPR 11 : 1999, A1 : 1999, A2 : 2002

Conformité aux normes de sécurité relatives aux basses tensions

Cet instrument est conforme à la directive 73/23/CEE relative aux basses tensions et à la norme EN 61010-1:2001 harmonisée. 2001.

TSQ Vantage

CEM - Directive 2004/108/CE

La compatibilité électromagnétique (CEM) a été évaluée par l'organisme de certification TUV Rheinland of North America, Inc.

EN 55011 : 1998, A1 : 1999, A2 : 2002	EN 61000-4-4 : 2004
EN 61000-3-2 : 2006	EN 61000-4-5 : 2006
EN 61000-3-3 : 1995, A1 : 2001, A2 : 2005	EN 61000-4-6 : 2001
EN 61000-4-2 : 2001	EN 61000-4-11 : 2004
EN 61000-4-3 : 2006	EN 61326-1 : 2006
FCC Classe A, CFR 47 Partie 15 : 2007	CISPR 11 : 1999, A1 : 1999, A2 : 2002

Conformité aux normes de sécurité relatives aux basses tensions

Cet instrument est conforme à la directive 2006/95/CE relative aux basses tensions et à la norme EN 61010-1 harmonisée.

TSQ Quantum Access

Directives CEM 89/336/CEE, 92/31/CEE, 93/68/CEE

La CEM a été évaluée par l'organisme de certification TUV Rheinland of North America, Inc.

EN 55011 : 1998, A1 : 1999, A2: 2002
EN 61000-3-2 : 2000
EN 61000-3-3 : 1995, A1 : 2001
EN 61000-4-2 : 2001
EN 61000-4-3 : 2002
EN 61000-4-4 : 1995, A1 : 2000, A2: 2001
EN 61000-4-5 : 2001
EN 61000-4-6 : 2003
EN 61000-4-11 : 2001
EN 61326 : 1997, A1 : 1998, A2: 2001, A3: 2003

FCC Classe A, CFR 47 Partie 15 : 2005
CISPR 11 : 1999, A1 : 1999, A2: 2002

Conformité aux normes de sécurité relatives aux basses tensions

Cet appareil est conforme à la Directive relative aux basses tensions EN 61010-1 : 2001 et à la norme harmonisée EN 61010-1 : 2001.

Déclaration de conformité FCC

CE PRODUIT EST CONFORME AUX EXIGENCES DE LA SECTION 15 DES RÈGLES DE LA FCC. SON UTILISATION EST SOUMISE AUX DEUX CONDITIONS SUIVANTES : (1) CE PRODUIT NE DOIT PAS PRODUIRE D'INTERFÉRENCES NUISIBLES ET (2) DOIT ACCEPTER TOUTES LES INTERFÉRENCES REÇUES, Y COMPRIS CELLES QUI RISQUENT D'OCCASIONNER UN FONCTIONNEMENT INDÉSIRABLE.

ATTENTION Il est indispensable de lire et de comprendre les différentes notes de mise en garde, signes et symboles contenus dans ce manuel et associés à l'usage et au fonctionnement sans danger de ce produit avant toute utilisation.

Mention relative au soulèvement et à la manipulation des instruments Thermo Scientific

Pour votre sécurité, et conformément aux réglementations internationales, la manipulation physique de cet instrument de Thermo Fisher Scientific ***exige la présence de plusieurs personnes***, notamment pour le soulever et/ou le déplacer. Cet instrument est trop lourd et/ou volumineux pour pouvoir être manipulé en toute sécurité par une seule personne.

Mention relative à l'utilisation appropriée des instruments Thermo Scientific

Conformément aux réglementations internationales : toute utilisation de cet instrument non conforme aux instructions de Thermo Fisher Scientific peut nuire à la protection qu'il offre.

Mention relative à la susceptibilité aux transmissions électromagnétiques

Votre instrument a été conçu pour fonctionner dans un environnement électromagnétique contrôlé. Ne pas utiliser de transmetteurs RF, comme les téléphones portables, à proximité.

Pour des informations relatives au site de fabrication, consulter l'étiquette fixée sur l'instrument.

WEEE Compliance

This product is required to comply with the European Union's Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE) Directive 2002/96/EC. It is marked with the following symbol:

Thermo Fisher Scientific has contracted with one or more recycling or disposal companies in each European Union (EU) Member State, and these companies should dispose of or recycle this product. See www.thermo.com/WEEERoHS for further information on Thermo Fisher Scientific's compliance with these Directives and the recyclers in your country.

WEEE Konformität

Dieses Produkt muss die EU Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE) Richtlinie 2002/96/EC erfüllen. Das Produkt ist durch folgendes Symbol gekennzeichnet:

Thermo Fisher Scientific hat Vereinbarungen mit Verwertungs-/Entsorgungsfirmen in allen EU-Mitgliedsstaaten getroffen, damit dieses Produkt durch diese Firmen wiederverwertet oder entsorgt werden kann. Mehr Information über die Einhaltung dieser Anweisungen durch Thermo Fisher Scientific, über die Verwerter, und weitere Hinweise, die nützlich sind, um die Produkte zu identifizieren, die unter diese RoHS Anweisung fallen, finden Sie unter www.thermo.com/WEEERoHS.

Conformité DEEE

Ce produit doit être conforme à la directive européenne (2002/96/EC) des Déchets d'Equipements Electriques et Electroniques (DEEE). Il est marqué par le symbole suivant :

Thermo Fisher Scientific s'est associé avec une ou plusieurs compagnies de recyclage dans chaque état membre de l'union européenne et ce produit devrait être collecté ou recyclé par celles-ci. Davantage d'informations sur la conformité de Thermo Fisher Scientific à ces directives, les recycleurs dans votre pays et les informations sur les produits Thermo Fisher Scientific qui peuvent aider la détection des substances sujettes à la directive RoHS sont disponibles sur www.thermo.com/WEEERoHS.

Table des matières

Préface . . . . . **xi**
À propos de ce guide xi
Documentation connexe xi
Mises en garde de sécurité et autres notices spéciales xi
Nous contacter xiii

Chapitre 1 Introduction **1**
Parmi ces trois modes, ESI, H-ESI et APCI, lequel convient le mieux à l'analyse des échantillons ? 2
Utilisation des modes ESI et H-ESI 2
Utilisation du mode APCI/MS 3
Comment introduire les échantillons dans le spectromètre de masse ? 4
Quels types de tampon utiliser ? 5
Comment configurer le spectromètre de masse pour plusieurs débits LC ? 6

Chapitre 2 Configuration de la source d'ions pour le réglage et l'étalonnage du spectromètre de masse **9**
Mise du système LC/MS en veille 9
Retrait de la sonde APCI 11
Retrait du boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S 14
Installation du cône de balayage ionique 14
Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S 16
Installation de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II 18

Chapitre 3 Réglage et étalonnage du spectromètre de masse **23**
Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par perfusion directe 24
Configuration pour le réglage et l'étalonnage automatiques 27
Création d'un faisceau d'ions stable 30
Vérification du fonctionnement en mode ESI/MS et H-ESI/MS 32
Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions positifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS 35
Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs en mode ESI/MS et H-ESI/MS 38
Nettoyage du système après le réglage et l'étalonnage 40

Chapitre 4 Optimisation du spectromètre de masse à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS **43**
Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode ESI ou H-ESI 45
Configuration de l'optimisation à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS 49

Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS 52

Chapitre 5 Acquisition de données ESI/SRM ou H-ESI/SRM 57
Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode ESI ou H-ESI 57
Acquisition de données ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS en mode de balayage SRM 60

Chapitre 6 Configuration de la source d'ions pour l'acquisition de données en mode APCI/MS/MS 67
Dépose de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II. 67
Dépose du boîtier de la source d'ions Ion Max ou Ion Max-S 69
Retrait du cône de balayage ionique. 70
Installation de l'aiguille de décharge de Corona 70
Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S 71
Installation de la sonde APCI. 73

Chapitre 7 Optimisation du spectromètre de masse en mode APCI/MS/MS 75
Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode APCI 76
Configuration de l'optimisation en mode APCI/MS/MS. 79
Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode APCI/MS/MS 83

Chapitre 8 Acquisition de données APCI/MS/MS 87
Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode APCI. 87
Acquisition de données APCI/MS/MS en mode de balayage SRM 90

Annexe A Étalonnage en masse élevée 97

Annexe B Étalonnage en masse précise 105
Étalonnage en haute résolution 105
Étalonnage en masse précise. 106

Annexe C Préparation de solutions 109
Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 110
Préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 à l'aide d'un produit solide prémélangé 110
Préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 à l'aide de produits chimiques secs de votre stock. 111
Solution d'étalonnage en masse élevée Ultramark 1621 112
Solution d'étalonnage en masse précise 113
Solution mère de PEG 113
Solution d'étalonnage en masse précise 114
Solutions de réserpine 114

Annexe D Directives de développement de méthodes instrumentales 117

Index 121

Préface

À propos de ce guide

Le *Guide de démarrage rapide de la gamme TSQ* fournit des informations sur la configuration, l'étalonnage et le réglage du spectromètre de masse TSQ, et l'acquisition des données MS. Toutes ces procédures peuvent être effectuées à partir d'EZ Tune ou de Tune Master.

Documentation connexe

En complément de ce guide, Thermo Fisher Scientific propose également les ouvrages suivants pour les spectromètres de masse TSQ™ :

- *Guide de pré-installation de la gamme TSQ*
- *Guide de connexion de la gamme TSQ*
- *Manuel du matériel de la gamme TSQ*
- *Manuel d'utilisation de la sonde H-ESI*
- *Manuel d'utilisation de la sonde HESI-II*
- *Manuel du matériel de la source API Ion MAX et Ion MAX-S*

Le logiciel propose également une aide en ligne.

Mises en garde de sécurité et autres notices spéciales

Assurez-vous de suivre toutes les consignes de sécurité présentées dans ce guide. Les mises en garde de sécurité et autres notices spéciales apparaissent dans des encadrés.

Elles incluent notamment ce qui suit :

MISE EN GARDE Signale des dangers potentiels pour les personnes, les équipements ou l'environnement. Chaque notice ATTENTION est accompagnée du symbole de mise en garde correspondant.

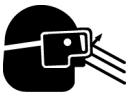
IMPORTANT Signale des informations importantes destinées à prévenir toute altération logicielle, perte de données ou résultat d'essai non valide ; peut également souligner des informations essentielles à l'optimisation des performances du système.

Remarque Signale des informations d'intérêt général.

Conseil Signale des informations utiles qui peuvent simplifier l'exécution d'une tâche.

Le Tableau 1 dresse la liste des notices Attention apparaissant dans le présent *Guide de démarrage rapide de la gamme TSQ*.

Tableau 1. Description et signification des symboles de mise en garde

Symbole	Explication
	Danger général : Indique la présence d'un danger n'appartenant pas aux catégories suivantes. Ce symbole figure également sur l'instrument. Se reporter aux instructions contenues dans le manuel fourni avec l'instrument pour obtenir des détails sur le danger en question.
	Chimique : Des produits chimiques dangereux peuvent se trouver dans l'instrument. Porter des gants pour manipuler tous produits chimiques toxiques, cancérigènes, mutagènes ou corrosifs/irritants. Toujours utiliser des récipients et des procédures homologués pour mettre au rebut les huiles usagées.
	Haute température : Laisser refroidir les composants chauffés avant toute intervention.
	**Danger pour les yeux :** Les projections chimiques, liquides ou solides, peuvent être dangereuses pour les yeux. Porter des lunettes de protection lors de toute manipulation de produit chimique ou intervention sur l'instrument.
	Objet coupant : Un objet coupant se trouve dans l'instrument. Manipuler avec précaution.
	Electrocution : L'instrument présente un risque d'électrocution. Manipuler avec précaution.

Nous contacter

Pour nous contacter Thermo Fisher Scientific et obtenir les informations dont vous avez besoin, plusieurs solutions :

❖ **Pour contacter l'assistance clientèle**

Téléphone	800-532-4752
Fax	561-688-8736
Courriel	us.techsupport.analyze@thermofisher.com
Base de connaissances	www.thermokb.com

Télécharger les mises à jour et utilitaires logiciels à l'adresse mssupport.thermo.com.

❖ **Pour contacter le service clientèle afin d'obtenir des informations sur la commande**

Téléphone	800-532-4752
Fax	561-688-8731
Courriel	us.customer-support.analyze@thermofisher.com
Site Web	www.thermo.com/ms

❖ **Pour obtenir un exemplaire des manuels via Internet**

Consulter le site mssupport.thermo.com et cliquez sur **Customer Manuals** (Manuels destinés aux clients) dans la marge gauche de la fenêtre.

❖ **Pour envoyer des commentaires ou suggestions concernant la documentation ou l'aide**

- Cliquez sur le lien ci-dessous pour répondre à une brève enquête sur ce document. Merci par avance pour votre aide.

- Envoyer un courrier électronique au responsable des publications techniques à l'adresse techpubs-lcms@thermofisher.com.

Introduction

Les spectromètres de masse TSQ appartiennent à la gamme des spectromètres de masse Thermo Scientific. Les spectromètres de masse TSQ sont des instruments triples quadripôles de haute performance. Ils comprennent tous une pompe seringue, une vanne de dérivation/d'injection, une source API (atmospheric pressure ionization, ionisation à pression atmosphérique) et le système de données Xcalibur™. En général, les échantillons sont introduits à l'aide de l'une des méthodes suivantes :

- la pompe à seringue sans vanne de dérivation/d'injection ou un système LC (perfusion directe). Vous pouvez brancher la pompe seringue directement sur la source d'ions pour que l'introduction de l'échantillon ou de la solution de réglage et d'étalonnage soit régulière.
- la pompe à seringue et un système LC sans vanne de dérivation/d'injection (perfusion dans le flux LC). Vous pouvez utiliser la pompe seringue pour perfuser un échantillon dans le flux d'une phase mobile d'un système LC.
- la vanne de dérivation/injection dotée d'une boucle d'échantillonnage et un système LC (analyse par injection de flux). Vous pouvez utiliser une pompe seringue pour remplir la boucle (injection automatique par boucle) ou remplir la boucle manuellement (injection manuelle par boucle).
- la vanne de dérivation/injection et un système LC doté d'une colonne analytique. Vous pouvez configurer le système de données de sorte qu'il dérive le flux de solvant vers un conteneur de récupération des liquides afin d'éviter toute contamination inutile du spectromètre de masse par des résidus d'échantillon non souhaités.
- un système LC sans vanne de dérivation/d'injection. Vous pouvez brancher le système LC directement sur la source d'ions pour réduire le volume mort de celui-ci.

Lors d'une analyse par LC/MS, les composants séparés par la colonne LC sont analysés dans le spectromètre de masse. L'analyse par perfusion directe ou injection de flux ne permet pas la séparation chromatographique des composés de l'échantillon avant que celui-ci ne soit parvenu au spectromètre de masse. Dans ces deux cas, les données générées par le spectromètre de masse sont ensuite stockées et traitées par le système de données Xcalibur.

La présente introduction répond aux questions suivantes :

- Parmi ces trois modes, ESI, H-ESI et APCI, lequel convient le mieux à l'analyse des échantillons ?
- Comment introduire les échantillons dans le spectromètre de masse ?
- Quels types de tampon utiliser ?
- Comment configurer le spectromètre de masse pour plusieurs débits LC ?

Parmi ces trois modes, ESI, H-ESI et APCI, lequel convient le mieux à l'analyse des échantillons ?

Vous pouvez utiliser le spectromètre de masse dans l'un des trois modes d'ionisation à pression atmosphérique suivants :

- ESI (Electrospray ionization, ionisation par électrospray)
- H-ESI (Heated Electrospray ionization, ionisation par électrospray à chaud)
- APCI (Atmospheric pressure chemical ionization, ionisation chimique à pression atmosphérique)

En général, les modes ESI et H-ESI donnent de meilleurs résultats pour les composés polaires tels que les amines, les peptides et les protéines. Le mode APCI donne de meilleurs résultats pour les composés non polaires tels que les stéroïdes.

Les ions d'échantillon peuvent transporter une ou plusieurs charges. Le nombre de charges transportées par les ions d'échantillon varie en fonction de la structure de l'analyte utilisé, de la phase mobile et du mode d'ionisation.

Utilisation des modes ESI et H-ESI

Les modes ESI et H-ESI produisent en général des spectres de masse composés d'ions à charge unique. Toutefois, la charge dépend de la structure de l'analyte et du solvant. Lorsque des ions à charges multiples sont produits, les spectres de masse peuvent être transformés mathématiquement afin d'indiquer les masses moléculaires de l'échantillon.

Les modes ESI et H-ESI transfèrent les ions dans la solution en phase gazeuse. Ils permettent d'analyser n'importe quel échantillon qui ne convenait pas auparavant à une analyse de masse (par exemple, les composés thermolabiles ou ceux à masse moléculaire élevée). Les modes ESI et H-ESI permettent d'analyser n'importe quel composé polaire qui produit un ion préformé en solution. L'expression *ion préformé* peut s'appliquer aux ions adduits. Par exemple, les glycols polyéthyléniques peuvent être analysés à partir d'une solution à base d'acétate d'ammonium du fait de la formation d'adduits entre les ions NH_4^+ présents dans la solution et les atomes d'oxygène du polymère. En mode ESI ou H-ESI, l'instrument TSQ permet d'analyser des composés dont les masses moléculaires sont supérieures à 100000 u en raison de leurs charges multiples. Les modes ESI et H-ESI s'avèrent particulièrement utiles pour la caractérisation de masses de composés polaires, notamment de polymères biologiques (par exemple, des protéines, des peptides, des glycoprotéines et des nucléotides), de produits pharmaceutiques et métabolites associés, et de polymères industriels.

Les modes ESI et H-ESI peuvent être utilisés avec les polarités ions positifs ou ions négatifs. La polarité des ions préformés en solution détermine le mode de polarité des ions : les molécules acides produisent des ions négatifs dans une solution à pH élevé, tandis que les molécules basiques forment des ions positifs dans une solution à pH faible. Une aiguille d'électrospray à charge positive génère des ions positifs et une aiguille à charge négative génère des ions négatifs.

Vous pouvez modifier le débit du LC vers le spectromètre de masse : il peut être compris entre 1 µl/min (ou moins) (utilisez une source d'ions par nanospray) et 1 000 µl/min (utilisez les sources ESI et H-ESI standard). Voir le Tableau 4. Dans le cas de protéines ou de peptides de masse moléculaire supérieure, le spectre de masse obtenu comprend généralement une série de pics correspondant à une distribution d'ions analytes à charges multiples.

La taille des gouttelettes, la charge de leur surface, la tension à la surface des gouttelettes, le degré de volatilité du solvant et la force de solvatation des ions sont des facteurs qui ont une incidence sur les processus ESI et H-ESI. Les gouttelettes de grande taille avec une tension de surface élevée, une faible

volatilité, une forte solvatation des ions, une charge en surface faible et une haute conductivité peuvent nuire à la qualité de l'électrospray. (En mode ESI ou H-ESI, le tampon et la concentration de celui-ci ont un effet significatif sur la sensibilité, c'est pourquoi il est important de choisir judicieusement ces variables.)

Les systèmes solvants hydro-organiques contenant des solvants organiques tels que le méthanol, l'acétonitrile et l'alcool isopropylique sont préférables à l'eau en mode H-ESI ou ESI. Les acides et les bases volatiles sont utiles, mais pour une qualité de résultats optimale, n'utilisez pas de sels au-delà de 10 mM. Les acides et les bases minéraux forts sont extrêmement corrosifs pour l'instrument.

Pour générer un électrospray stable, suivez les recommandations ci-dessous :

- N'utilisez pas de sels ou de tampons non volatiles dans le système solvant. Par exemple, évitez d'utiliser des phosphates et des sels contenant du sodium ou du potassium. Si nécessaire, préférez des sels à base d'ammonium.
- Utilisez des systèmes solvants hydro-organiques.
- Utilisez des acides et des bases volatiles.
- Si possible, optimisez le pH du système solvant pour l'analyte utilisé. Par exemple, si l'analyte utilisé contient une amine primaire ou secondaire, la phase mobile doit être acide (pH compris entre 2 et 5). Le pH acide tend à conserver les ions positifs dans la solution.

Utilisation du mode APCI/MS

Comme les processus ESI et H-ESI, le processus APCI est une technique d'ionisation douce. Il fournit des informations sur les masses moléculaires des composés de faible polarité dotés d'une certaine volatilité. En général, le mode APCI sert à analyser les molécules de petite taille dont les masses moléculaires ne dépassent pas 1 000 u environ.

Le processus APCI est une technique d'ionisation en phase gazeuse. Par conséquent, les acides et bases en phase gazeuse de l'analyte et du solvant jouent un rôle important dans le processus APCI.

Le débit du solvant entre la LC et le spectromètre de masse en mode APCI est compris entre 200 et 2 000 µl/min. Voir le Tableau 5.

Vous pouvez utiliser le mode APCI en polarité ions positifs ou ions négatifs. Les molécules avec des sites basiques produisent un fort courant d'ions en polarité ions positifs. Les molécules avec des sites acides, tels que les acides carboxyliques et les alcools acides, génèrent un fort courant d'ions en polarité ions négatifs.

Bien que le mode APCI produise en général moins d'ions négatifs que d'ions positifs, la polarité ions négatifs peut être plus spécifique car elle génère souvent moins de bruit chimique que la polarité ions positifs. Le rapport signal sur bruit peut donc être meilleur en polarité ions négatifs qu'en polarité ions positifs.

Comment introduire les échantillons dans le spectromètre de masse ?

Il existe différentes méthodes d'introduction des échantillons dans le spectromètre de masse (voir le Tableau 2).

Tableau 2. Techniques d'introduction des échantillons dans le spectromètre de masse

	Technique d'introduction des échantillons	Technique analytique	Figure
Perfusion directe	Perfusion directe (avec pompe seringue) *	Réglage et étalonnage automatiques ESI ou H-ESI Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'un analyte pur en solution	Figure 15 (ESI), Figure 16 (H-ESI), Figure 17, Figure 18
Flux LC sans séparation chromatographique	Injection automatique par boucle dans le flux LC (avec pompe seringue)	Optimisation automatique ESI, H-ESI ou APCI avec le composé utilisé Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'un analyte pur en solution	Figure 30 (ESI), Figure 31 (H-ESI), Figure 32, Figure 33, Figure 55 (APCI)
	Injection manuelle par boucle dans le flux LC	Optimisation automatique ESI, H-ESI ou APCI du réglage de l'analyte utilisé Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'un analyte pur en solution	Figure 40 (ESI), Figure 42, Figure 43
	Perfusion dans le flux LC (avec pompe seringue)*	Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'un analyte pur en solution	Chapitre Raccordements pour l'analyse d'échantillons à l'aide de l'instrument TSQ du *Guide de connexion de la gamme TSQ*
	Injections par échantillonneur automatique dans le flux LC	Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'une ou de plusieurs solutions	
Flux LC avec séparation chromatographique	Injections par échantillonneur automatique dans une colonne via le flux LC	Analyse ESI, H-ESI ou APCI d'un ou de plusieurs mélanges	

* Introduction régulière des échantillons dans le spectromètre de masse

Remarque Pour obtenir des schémas de raccordement supplémentaires pour d'autres combinaisons d'introduction des échantillons/de sources d'ions, se reporter au chapitre Raccordements pour l'analyse d'échantillons à l'aide de l'instrument TSQ du *Guide de connexion de la gamme TSQ*.

À de fortes concentrations, les solutions d'optimisation des composés, telles que la solution d'échantillon de réserpine, peuvent contaminer le système. Pour de meilleurs résultats, utilisez la technique d'injection automatique par boucle dans le flux LC pour introduire les solutions d'optimisation dans le spectromètre de masse.

Lors du réglage et de l'étalonnage automatiques en mode ESI ou H-ESI, la pompe seringue sert souvent à introduire la solution de réglage et d'étalonnage. Vous pouvez utiliser cette technique pour introduire une solution d'analyte pur à un débit régulier en mode ESI, H-ESI ou APCI.

Utilisez un raccord en T pour diriger les échantillons de la pompe seringue vers le flux LC (avec ou sans colonne) ; ils entreront ensuite dans le spectromètre de masse. Cette technique permet d'introduire des échantillons à un débit régulier et à des débits de solvant élevés. Il permet tout particulièrement d'optimiser les réglages utilisant un analyte spécifique en mode ESI, H-ESI ou APCI. Cette technique d'introduction d'une solution d'analyte pur à un débit régulier fonctionne également en mode ESI, H-ESI ou APCI.

Vous pouvez introduire un échantillon contenu dans une seringue dans la boucle de la vanne de dérivation/d'injection : Utilisez la vanne de dérivation/d'injection pour introduire l'échantillon dans le flux LC ; l'échantillon entrera ensuite dans le spectromètre de masse. Cette technique fonctionne bien pour introduire en direct des analytes purs dans le spectromètre de masse en mode ESI, H-ESI ou APCI. Elle s'avère utile lorsque vous ne disposez que d'une quantité restreinte d'analyte pur.

Il est également possible d'introduire des échantillons dans le flux LC à l'aide d'un échantillonneur automatique LC. Cette technique fonctionne en mode ESI, H-ESI ou APCI et sert à introduire en direct une solution d'analyte pur dans le spectromètre de masse.

La dernière méthode est l'introduction d'un mélange dans une colonne LC à l'aide d'un échantillonneur automatique LC. Cette technique fonctionne en mode ESI, H-ESI ou APCI et sert à séparer les analytes avant leur introduction séquentielle dans le spectromètre de masse.

Pour obtenir des schémas de raccordement concernant ces différentes méthodes d'introduction des échantillons, se reporter aux chapitres suivants du présent manuel et au *Guide de connexion de la gamme TSQ*.

Quels types de tampon utiliser ?

Pour obtenir les meilleures performances lors de vos expériences, utilisez chaque fois que cela est possible des tampons volatiles au lieu de tampons non volatiles. Il existe de nombreuses solutions de tampons volatiles, par exemple :

- Acide acétique
- Acétate d'ammonium
- Formiate d'ammonium
- Hydroxyde d'ammonium
- Triéthylamine (TEA)
- Acide trifluoroacétique(TFA)

Certaines application LC utilisent des tampons non volatiles tels que des tampons phosphate ou borate. Toutefois, les tampons non volatiles peuvent créer des accumulations de sels dans la source d'ions et causer une perte de sensibilité.

Pour les applications LC requérant des tampons non volatiles, suivez les directives ci-après afin d'obtenir des performances optimales :

- Optimisez la position de la sonde.
- Installez le cône de balayage ionique facultatif.
- Réduisez au maximum la concentration des tampons.

Remarque Si vous utilisez des tampons non volatiles, il vous faudra peut-être augmenter la fréquence des interventions de maintenance sur la source d'ions.

Comment configurer le spectromètre de masse pour plusieurs débits LC ?

Les sondes ESI, H-ESI, et HESI-II peuvent générer des ions à partir de débits de liquide compris entre 1 µl/min et 1,0 ml/min. Cette gamme de débits permet d'utiliser différentes techniques de séparation : LC capillaire, LC microbore et LC analytique. Une source d'ions nanospray facultative est disponible pour les analyses inférieures au microlitre. La sonde APCI peut générer des ions à partir de débits de liquide de 50 µl/min, mais les débits habituels sont compris entre 0,2 et 2,0 ml/min. Cette gamme de débits permet d'utiliser les techniques de séparation suivantes : LC microbore, LC analytique et LC semi-préparative.

À mesure que vous modifiez le débit des solvants entrant dans le spectromètre de masse, vous devez adapter plusieurs réglages de ce dernier :

- En mode ESI, réglez les températures du tube de transfert des ions et les débits des gaz gaine et auxiliaire.
- En mode H-ESI, réglez les températures du tube de transfert des ions et du vaporisateur, ainsi que ceux des débits des gaz gaine et auxiliaire.
- En mode APCI, réglez les températures du tube de transfert des ions et du vaporisateur, ainsi que les débits des gaz gaine et auxiliaire.

En général, plus le débit de liquide entrant dans le spectromètre de masse est élevé, plus la température du tube de transfert des ions (et du vaporisateur) et les débits de gaz sont élevés.

Le Tableau 3 fournit des directives sur les réglages H-ESI à différents débits de solvant LC, le Tableau 4 les réglages ESI et le Tableau 5 les réglages APCI.

Tableau 3. Directives concernant les réglages LC/H-ESI/MS

Débit de liquide (µl/min)	Température du capillaire (tube de transfert des ions) (°C)*	Température du vaporisateur (°C)†	Pression du gaz gaine (unités arbitraires)	Débit de gaz auxiliaire (unités arbitraires)	Tension du spray (V)
5	240	Arrêt à 50	5	0 à 10‡	+3000 (-2500)**
200	350	250 à 300	35	30 (sonde H-ESI) 10 (sonde HESI-II)	+3000 (-2500)
500	380	300 à 400 (sonde H-ESI) 300 à 500 (sonde HESI-II)	60	50 (sonde H-ESI) 20 (sonde HESI-II)	+3000 (-2500)
1000	400	350 à 450 (sonde H-ESI) 500 (sonde HESI-II)	75	60 (sonde H-ESI) 20 (sonde HESI-II)	+3000 (-2500)

*Optimisez toujours la tension de la lentille tubulaire ou la tension rf de la lentille S (TSQ Vantage) lorsque vous modifiez la température du tube de transfert des ions.

†Dépend du composé

‡Le débit de gaz auxiliaire doit être supérieur à 0 lorsque le vaporisateur fonctionne

**Mode ions négatifs

Tableau 4. Directives concernant les réglages LC/ESI/MS

Débit de liquide (µL/min)	Diamètre intérieur de colonne recommandé (mm)	Tension du spray (V)	Température du capillaire (°C)	Gaz gaine (unité arbitraire)	Gaz auxiliaire (unité arbitraire)
≤ 10	Capillaire	3000 (-2500)*	De 200 à 250	De 5 à 30	Hors tension
De 50 à 100	1,0	3000 (-2500)	De 250 à 300	De 10 à 30	De 5 à 10
De 200 à 400	De 2,1 à 4,6	3500 (-2500)	De 300 à 350	De 20 à 40	De 10 à 20
≥ 400	4,6	4000 (-3500)	350	De 30 à 75	De 10 à 40

*Mode ions négatifs

Tableau 5. Directives concernant les réglages LC/APCI/MS

Débit de liquide (µL/min)	Température du capillaire (°C)	Température du vaporisateur APCI (°C)	Gaz gaine (unité arbitraire)	Gaz auxiliaire (unité arbitraire)	Courant de décharge de Corona (µA)
200	250	350	25	5	+4 (-10)*
1000	250	450	45	5	+4 (-10)

*Mode ions négatifs

Configuration de la source d'ions pour le réglage et l'étalonnage du spectromètre de masse

Ce chapitre fournit des informations de configuration du matériel pour régler et étalonner votre spectromètre de masse de la gamme TSQ. Vous réglez et étalonnez en mode ESI ou H-ESI avant d'acquérir des données en mode ESI, H-ESI ou APCI.

Contenu

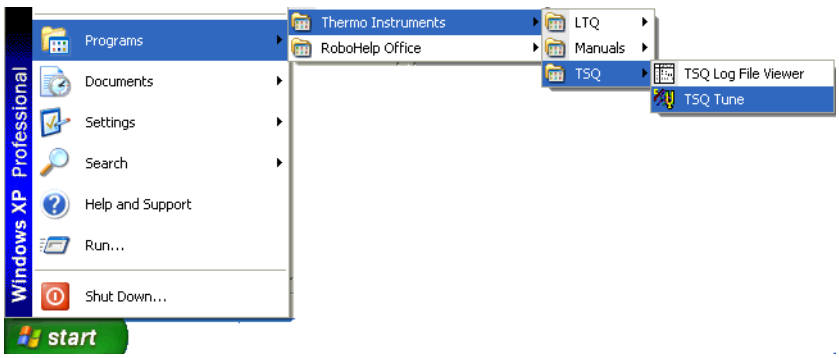
- Mise du système LC/MS en veille
- Retrait de la sonde APCI
- Retrait du boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S (pour retirer l'aiguille de décharge de Corona APCI)
- Installation du cône de balayage ionique (facultatif)
- Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S
- Installation de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II

Mise du système LC/MS en veille

Le système LC/MS doit être mis en veille avant le retrait de la source d'ions.

❖ **Pour mettre le système LC/MS en veille**

1. Le cas échéant, arrêter le flux de solvant vers la source API comme suit :
   a. Si la fenêtre EZ Tune n'est pas ouverte, choisissez **Démarrer > Tous les programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** dans la barre des tâches Windows™ afin d'ouvrir cette fenêtre. Voir la Figure 1.



b. Choisissez **Setup > Inlet Direct Control** pour ouvrir la boîte de dialogue Inlet Direct Control.

c. Affichez la page LC et cliquez sur (Arrêt) pour arrêter la pompe LC.

Marche

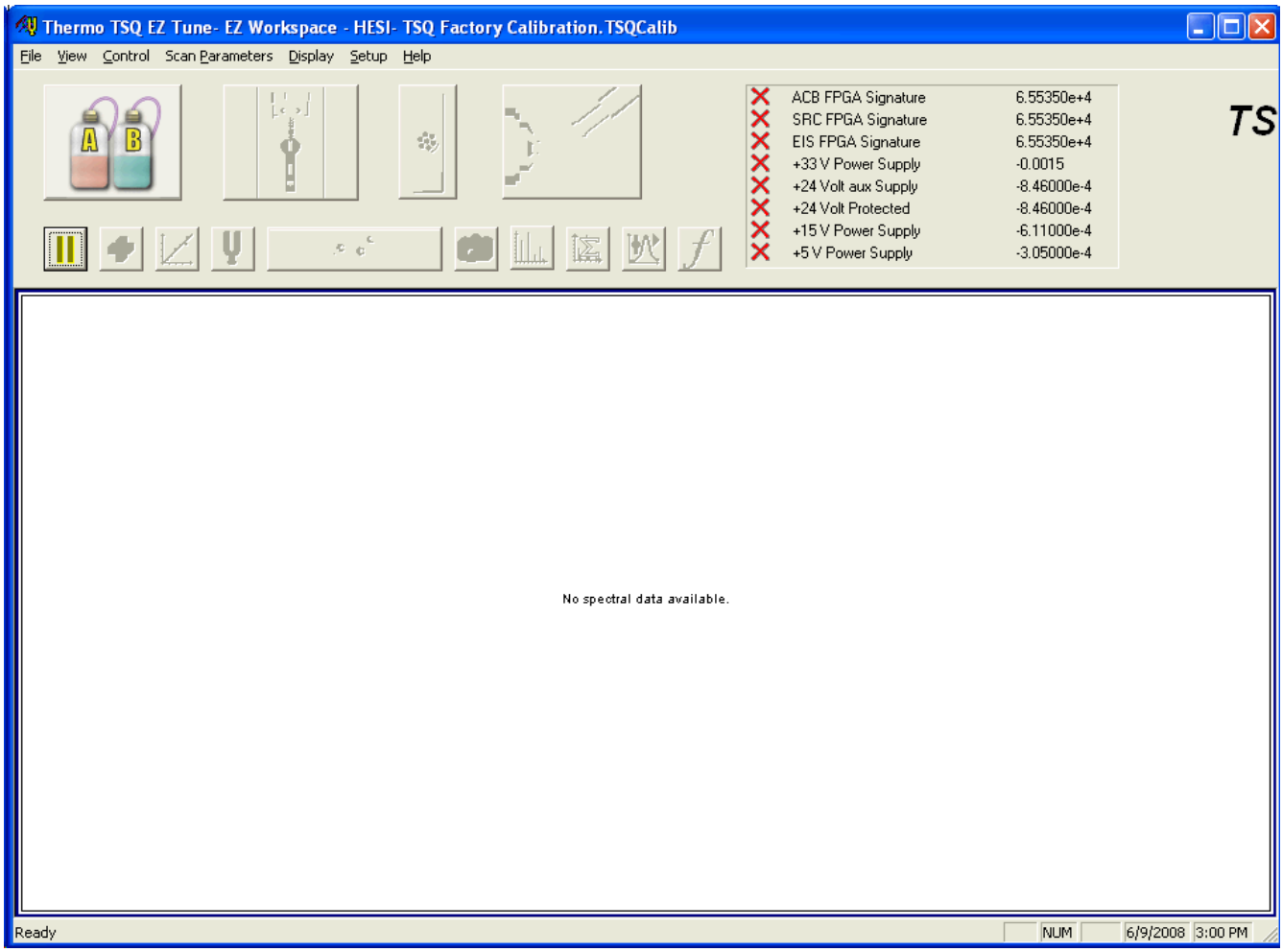
Arrêt

Veille

Vous pouvez connaître l'état du spectromètre de masse grâce au bouton On/Standby de la barre d'outils Control/Scan Mode. (Les trois différents états du bouton On/Standby sont illustrés ci-contre.)

2. Si le spectromètre de masse est sous tension, cliquez sur le bouton **On/Standby** pour le mettre en mode veille. Lorsque le spectromètre de masse est en mode veille, le TSQ désactive le gaz gaine, le gaz auxiliaire et la haute tension de la source d'ions.

Figure 1. Fenêtre EZ Tune affichant le spectromètre de masse en veille


Thermo TSQ EZ Tune- EZ Workspace - HESI- TSQ Factory Calibration.TSQCalib
File View Control Scan Parameters Display Setup Help
ACB FPGA Signature 6.55350e+4
SRC FPGA Signature 6.55350e+4
EIS FPGA Signature 6.55350e+4
+33 V Power Supply -0.0015
+24 Volt aux Supply -8.46000e-4
+24 Volt Protected -8.46000e-4
+15 V Power Supply -6.11000e-4
+5 V Power Supply -3.05000e-4
TS
No spectral data available.
Ready
NUM
6/9/2008
3:00 PM

Le système LC/MS est désormais en mode veille ; vous pouvez retirer la source d'ions en toute sécurité.

Passez à la section suivante « Retrait de la sonde APCI ».

Retrait de la sonde APCI

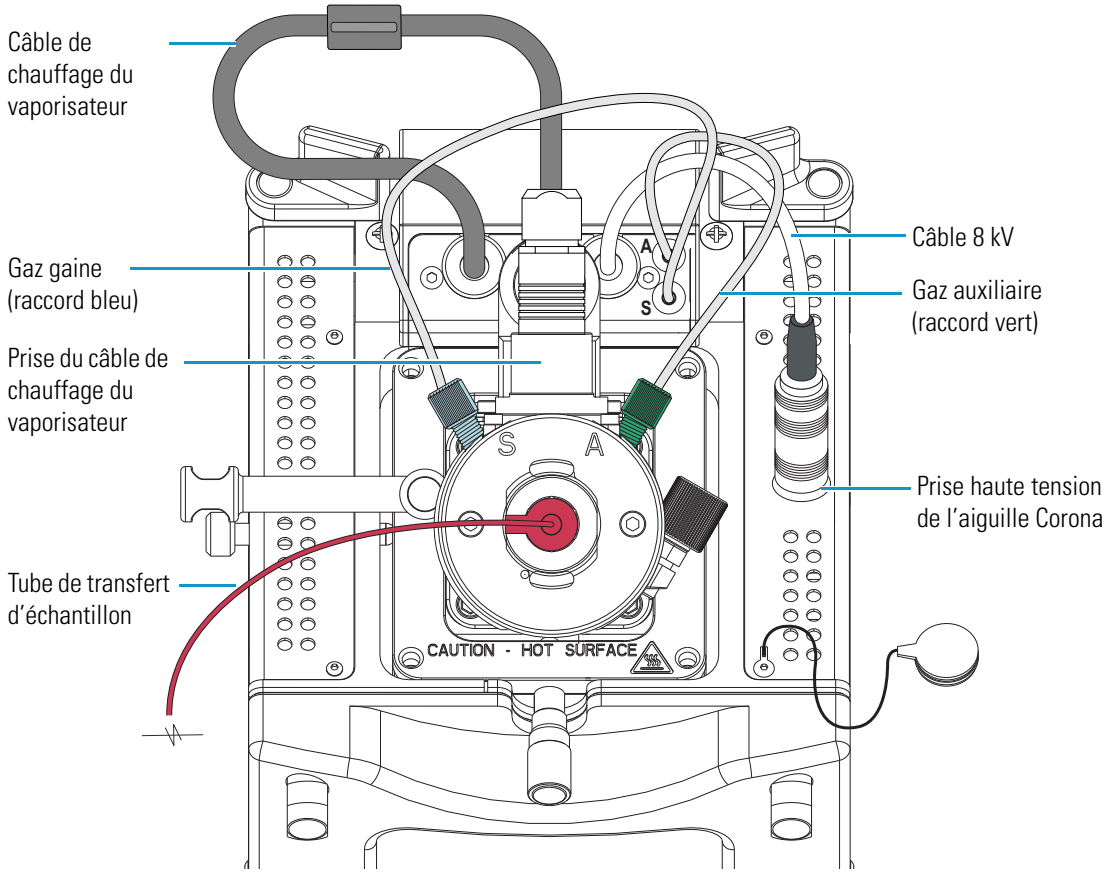
Cette section décrit le retrait de la sonde APCI.

Remarque Les procédures suivantes supposent une connaissance de l'instrument et du système de données Xcalibur. Pour plus d'informations, se reporter à l'aide en ligne TSQ, et aux manuels *Guide de connexion de la gamme TSQ*, *Manuel du matériel de la source API Ion MAX et Ion MAX-S* et *Manuel du matériel de la gamme TSQ*.

❖ Pour retirer la sonde APCI

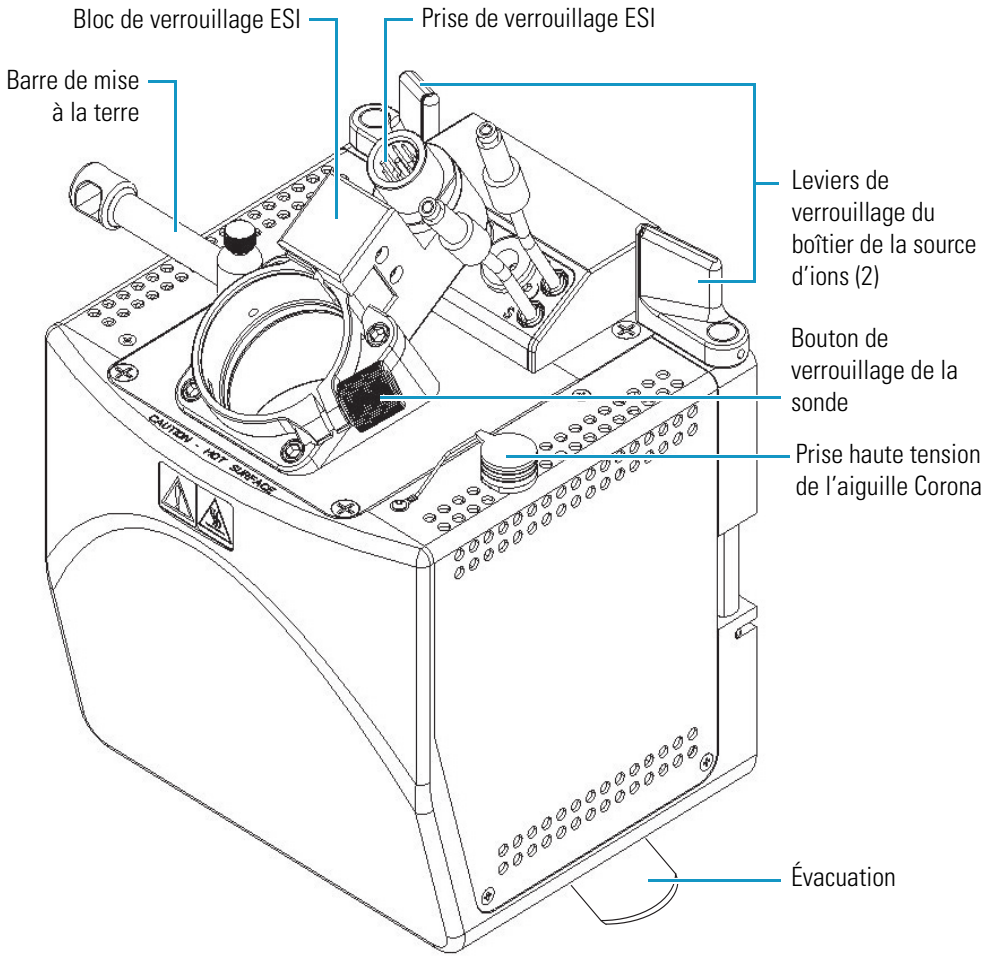
1. Débranchez le câble du vaporisateur de la prise correspondante sur la sonde APCI. Voir la Figure 2.

Figure 2. Ion Max™ avec sonde APCI installée



2. Si vous envisagez d'utiliser le mode ESI, branchez le câble du vaporisateur à la prise de verrouillage ESI sur le boîtier de la source d'ions. Voir la Figure 3.

Figure 3. Boîtier Ion Max-S™ : détail des composants (semblables à ceux du boîtier Ion Max)


Bloc de verrouillage ESI
Prise de verrouillage ESI
Barre de mise à la terre
Leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions (2)
Bouton de verrouillage de la sonde
Prise haute tension de l'aiguille Corona
Évacuation
CAUTION - HOT SURFACE

3. Débranchez le tube de transfert des échantillons de la sonde APCI. Voir la Figure 2.
4. Débranchez la ligne du gaz auxiliaire (raccord vert) de la sonde APCI.
5. Débranchez la ligne du gaz gaine (raccord bleu) de la sonde APCI.

MISE EN GARDE VEILLEZ À NE PAS VOUS BRÛLER. Aux températures de fonctionnement, le vaporisateur APCI peut provoquer des brûlures graves. Ce composant fonctionne généralement à une température comprise entre 400 et 600 °C. Laissez toujours refroidir le vaporisateur à température ambiante (pendant environ 20 minutes) avant de retirer ou de toucher ce composant.

6. Retirez la sonde APCI comme suit :
   a. Pour desserrer l'anneau de serrage de la sonde, tournez le bouton de verrouillage de la sonde dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.
   b. Ramenez délicatement la sonde à l'arrière de l'orifice du boîtier de façon à la placer dans le logement qui se trouve au niveau du bloc de verrouillage ESI. La tige de guidage du tube de la sonde évite de tordre la sonde jusqu'à ce que la tige soit alignée sur le logement du bloc de verrouillage ESI. Une fois la sonde en place et alignée sur le logement, tournez-la de 45 degrés dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour la dégager de l'encoche. Veillez à ne pas endommager le tube d'échantillonnage en silice fondue ou le manchon de sécurité PEEK™.

c. Tirez sur la sonde pour l'extraire du boîtier de la source d'ions.

d. Placez la sonde APCI dans son emballage d'origine.

7. Débranchez le câble de 8 kV de la prise haute tension de l'aiguille de Corona comme suit :

a. Déverrouillez le câble en tournant l'anneau de serrage dans le sens contraire des aiguilles d'une montre.

b. Débranchez le câble de 8 kV de la prise haute tension de l'aiguille de Corona.

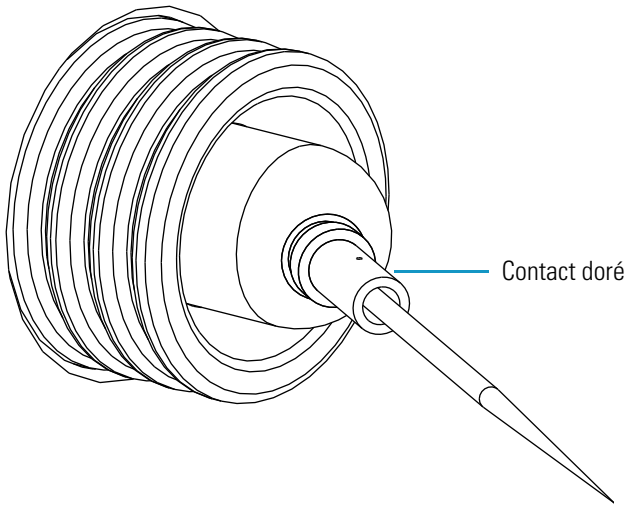
8. Retirez l'aiguille de décharge de Corona comme suit :

a. Retirez le boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S comme indiqué à la section « Retrait du boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S » à la page 14.

MISE EN GARDE L'aiguille de décharge de Corona est particulièrement pointue. Manipulez-la avec précaution pour ne pas vous blesser.

b. Retirez l'aiguille de Corona : à l'aide d'une pince, maintenez l'aiguille par le contact doré et tirez l'aiguille hors de la prise. Voir la Figure 4.

Figure 4. Aiguille de Corona, vue arrière



c. Placez l'aiguille de Corona dans son emballage d'origine.

Si vous souhaitez installer le cône de balayage ionique en option, consultez « Installation du cône de balayage ionique » à la page 14.

Si vous ne souhaitez pas installer le cône de balayage ionique, passez à la section « Installation du cône de balayage ionique » à la page 14.

Retrait du boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S

Vous devez retirer le boîtier de source d'ions Ion Max ou Ion Max-S pour pouvoir accéder au cône de balayage ionique et retirer l'aiguille de décharge de Corona APCI.

Remarque Si une source d'ions est encore en place dans le boîtier, débranchez d'abord les conduites de liquide externes avant d'enlever le boîtier de la source d'ions.

❖ Pour retirer le boîtier de la source d'ions

1. Retirez le tuyau d'évacuation du boîtier de la source d'ions. Voir la Figure 3.
2. Faites pivoter les leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions de 90 degrés pour dissocier le boîtier de la source de son ensemble de montage.
3. Retirez le boîtier de la source d'ions en le tirant hors de l'ensemble de montage. Rangez-le temporairement dans un endroit sûr.

Passez à la section suivante « Installation du cône de balayage ionique ».

Installation du cône de balayage ionique

Le cône de balayage ionique est un cône métallique qui couvre le tube de transfert des ions. Il canalise le gaz de balayage et l'oriente vers l'entrée du tube de transfert des ions. Ceci permet d'éviter tout contaminant à l'entrée du tube de transfert des ions et augmente ainsi considérablement le nombre d'échantillons pouvant être analysés sans perte d'intensité du signal. De plus, si l'entrée du tube de transfert d'ions est propre, les besoins d'entretien de la source d'ions sont moindres.

❖ Pour installer le cône de balayage ionique

1. Sortez le cône de balayage ionique de son emballage. Inspectez-la et nettoyez-la, si nécessaire.
2. Repérez l'emplacement de l'orifice d'arrivée du gaz de balayage dans le joint du cône API. L'arrivée de gaz du cône de balayage ionique se place sur cet orifice. Voir la Figure 5 et la Figure 6.

Figure 5. Orifice d'arrivée du gaz de balayage dans le joint du cône API de la cage du dispositif de chauffage du capillaire

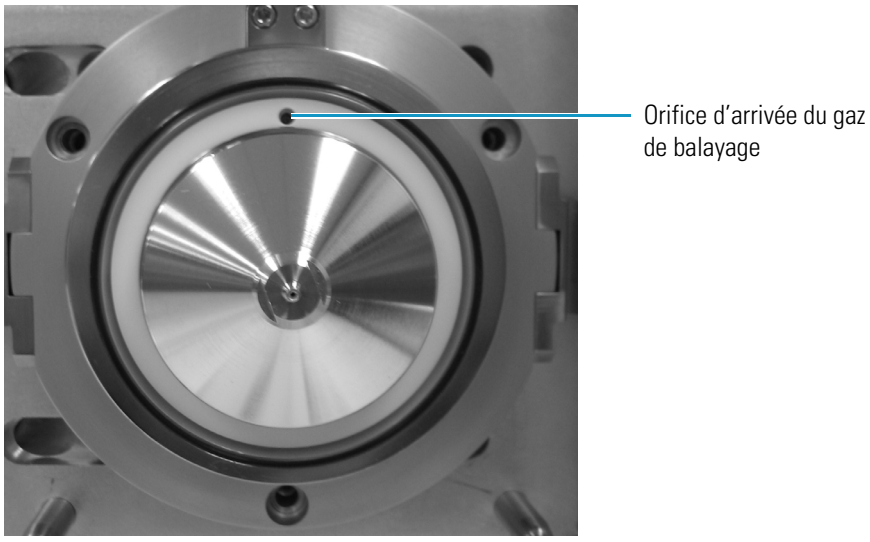
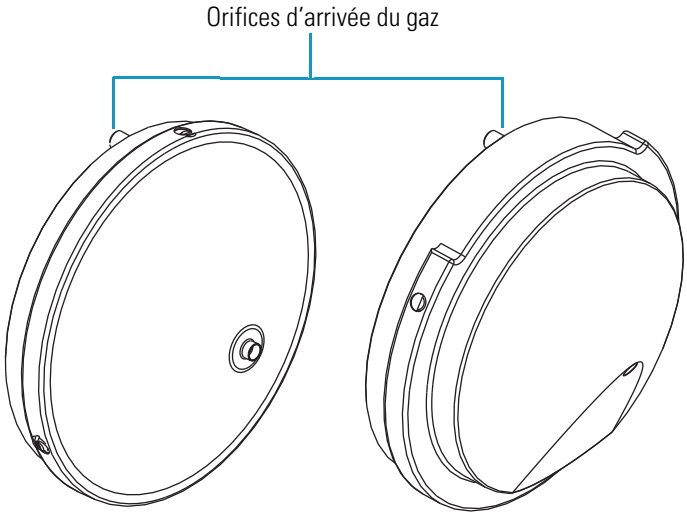


Figure 6. Cônes de balayage ionique FAIMS et APPI (à gauche) et H-ESI, ESI, et APCI (à droites), présentant les arrivées de gaz



MISE EN GARDE VEILLEZ À NE PAS VOUS BRÛLER. La température de fonctionnement du tube de transfert des ions est normalement comprise entre 200 et 400 °C. Laissez-le toujours refroidir à température ambiante (pendant environ 20 minutes) avant de retirer ou de toucher le cône de balayage ionique. Veillez à ne jamais toucher l'extrémité du tube de transfert des ions lorsqu'elle est exposée.

3. Une fois que la température du tube de transfert des ions est redescendue à température ambiante, alignez avec soin l'orifice d'arrivée du gaz du cône de balayage ionique sur l'orifice d'arrivée du gaz de balayage situé sur le support de la source d'ions. Appuyez sur le cône de balayage ionique fermement pour le mettre en place.

Le cône de balayage ionique est à présent correctement installé sur le spectromètre de masse.

Passez à la section suivante « Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S ».

Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S

❖ **Pour réinstaller le boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S**

MISE EN GARDE Veillez à ce que les tiges de guidage soient parfaitement alignées sur les orifices de guidage lorsque vous placez le boîtier de source d'ions sur la source d'ions. Dans le cas contraire, les connecteurs du boîtier pourraient être endommagés.

1. Alignez avec soin les deux orifices de guidage situés à l'arrière du boîtier de la source d'ions sur les tiges de guidage du spectromètre de masse. Appuyez délicatement le boîtier de la source contre son ensemble de montage. Voir la Figure 7 et la Figure 8.

Figure 7. Vue arrière du boîtier de la source d'ions Ion Max (semblable au boîtier de la source Ion Max-S)

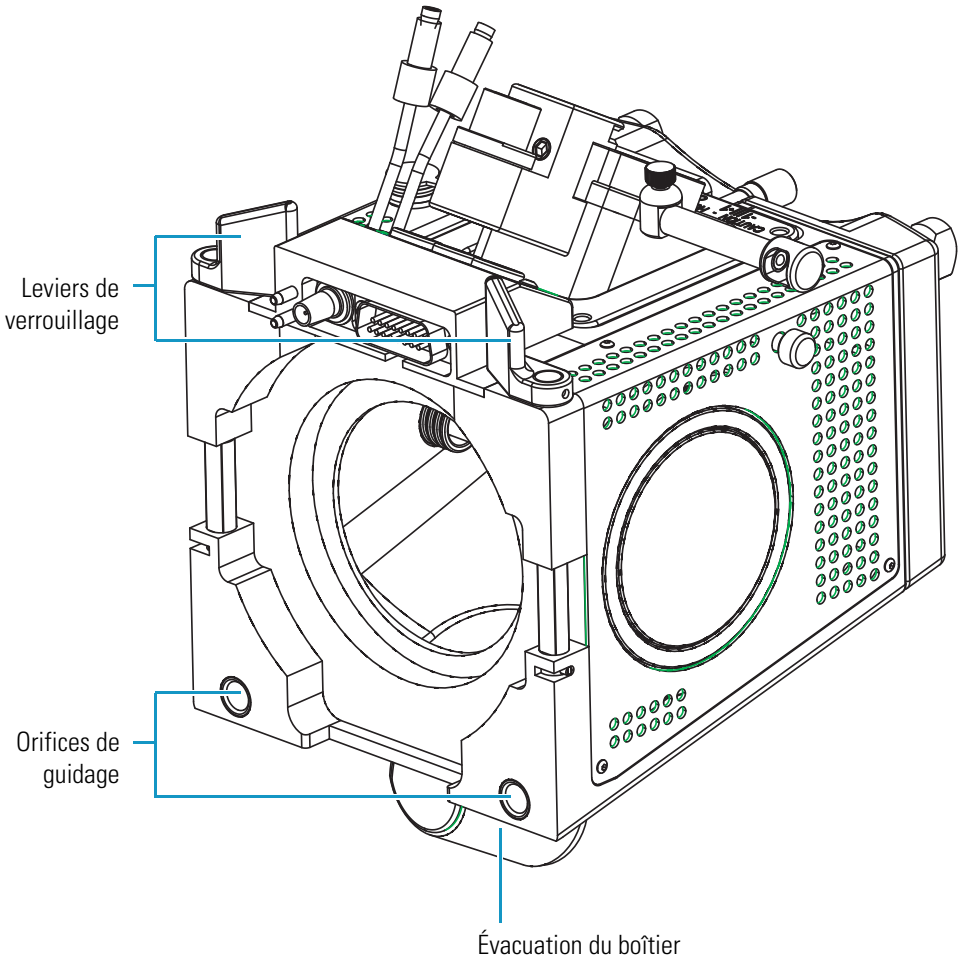
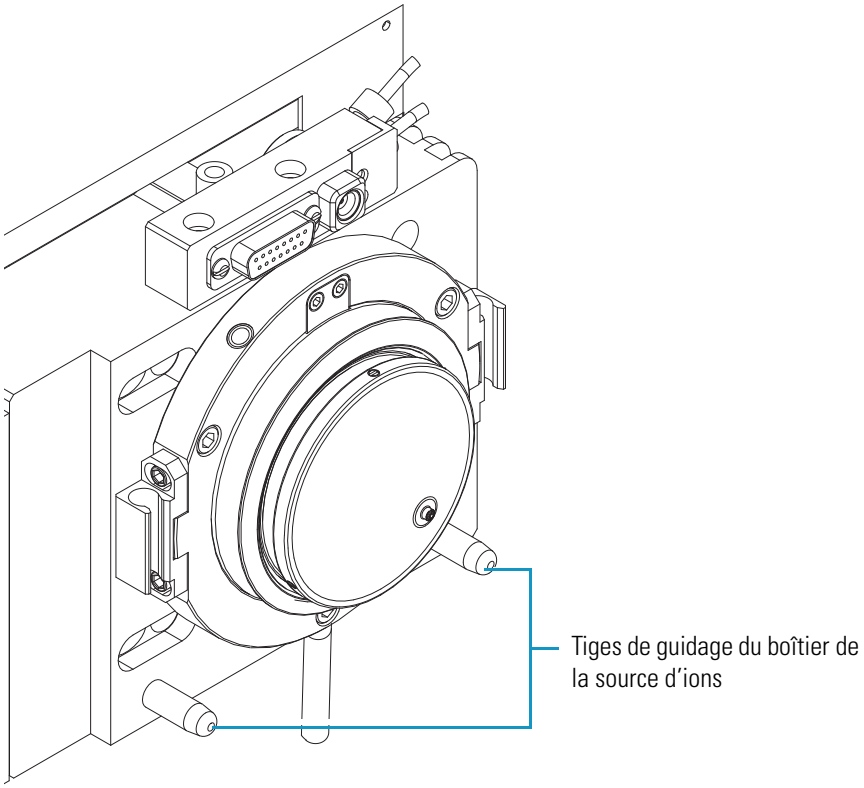


Figure 8. Ensemble de montage de la source d'ions avec les orifices de guidage



2. Faites pivoter les leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions de 90 degrés pour verrouiller le boîtier de la source sur son ensemble de montage.

MISE EN GARDE Veillez à ce que les solvants usés ne pénètrent pas dans la source d'ions ou le spectromètre de masse. Assurez-vous que le liquide présent dans le tuyau d'évacuation puisse toujours s'écouler dans un conteneur de récupération des liquides.

3. Rebranchez le tuyau d'évacuation de la source d'ions comme suit :

MISE EN GARDE Ne branchez pas le tuyau d'évacuation de la source API (ou tout autre tuyau d'évacuation raccordé au conteneur de récupération des liquides) sur le même système d'extraction de vapeurs que celui utilisé pour la pompe primaire. Il existe un risque de contamination du système optique de l'analyseur en cas de raccordement des tuyaux d'évacuation de la source API et de la pompe primaire (tuyau bleu) au même système d'extraction des vapeurs.

Il convient d'équiper le laboratoire d'au moins deux systèmes d'extraction/évacuation. Branchez le tuyau d'évacuation (bleu) de la pompe primaire à un système d'évacuation dédié. Raccordez le tuyau d'évacuation la source API à un conteneur de récupération des liquides. Assurez la ventilation de ce conteneur via un système d'évacuation dédié.

a. Branchez le tuyau Tygon™ de 2,54 cm de diamètre intérieur (référence 00301-22922) au tuyau d'évacuation du boîtier de la source.

b. Fixez l'extrémité libre du tuyau à un système d'évacuation dédié. L'idéal est que le système d'évacuation soit ventilé par un système d'extraction des vapeurs.

La boîtier Ion Max ou Ion Max-S est à présent correctement installé sur le spectromètre de masse.

Passez à la section suivante « Installation de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II ».

Installation de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II

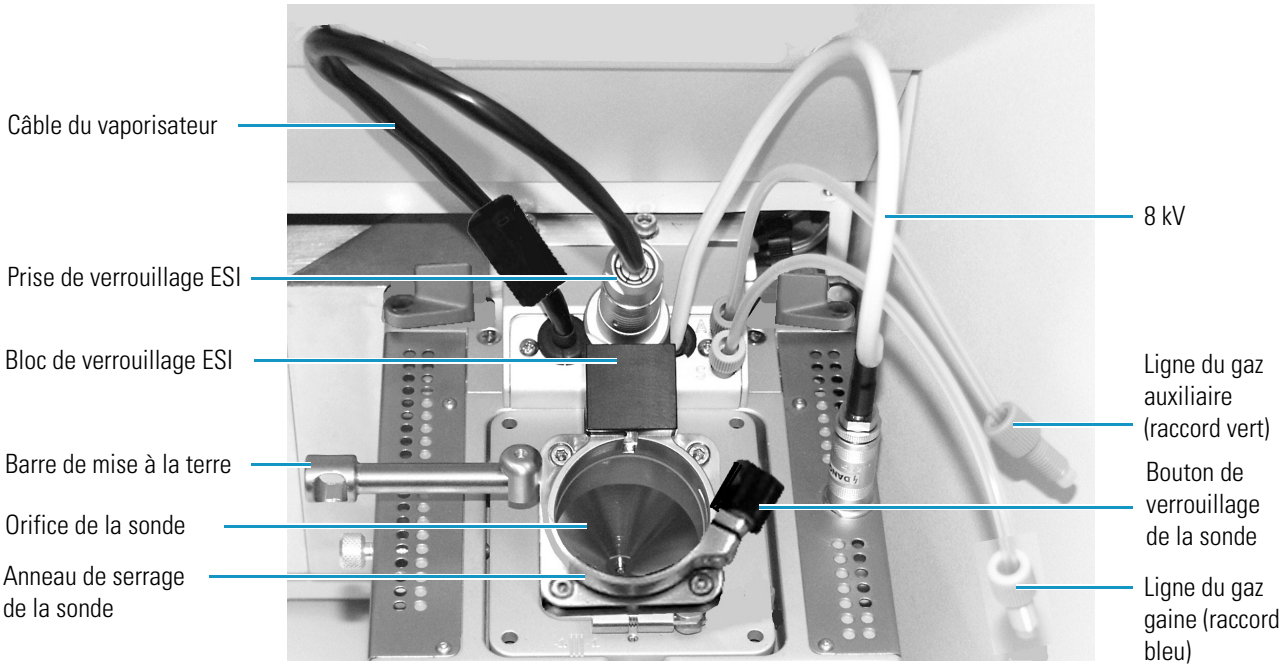
❖ **Pour installer la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II**

1. Sortez la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II de son emballage d'origine. Inspectez-la et nettoyez-la, si nécessaire.

   Remarque Si la sonde ESI ou H-ESI ne dispose pas d'un tube d'échantillonnage (capillaire en silice fondue) et du manchon de sécurité, vous devez suivre la procédure d'installation d'un tube d'échantillonnage et du manchon de sécurité PEEK décrite à la section Installation d'un nouveau tube d'échantillonnage en silice fondue et d'un manchon de sécurité PEEK du *Manuel du matériel de la source API Ion MAX et Ion MAX-S*.

2. Veillez à ce que l'anneau de serrage de la sonde soit réglé sur sa position la plus ouverte. Voir la Figure 9.

   Figure 9. Boîtier de la source d'ions Ion Max-S sans sonde API


Câble du vaporisateur
Prise de verrouillage ESI
Bloc de verrouillage ESI
Barre de mise à la terre
Orifice de la sonde
Anneau de serrage de la sonde
8 kV
Ligne du gaz auxiliaire (raccord vert)
Bouton de verrouillage de la sonde
Ligne du gaz gaine (raccord bleu)

3. Insérez la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II dans l'orifice du boîtier de la source d'ions, en alignant la tige de guidage (voir la Figure 10 et la Figure 12) sur le corps de la sonde à moins 45 degrés du bloc de verrouillage ESI.

Figure 10. Sonde ESI

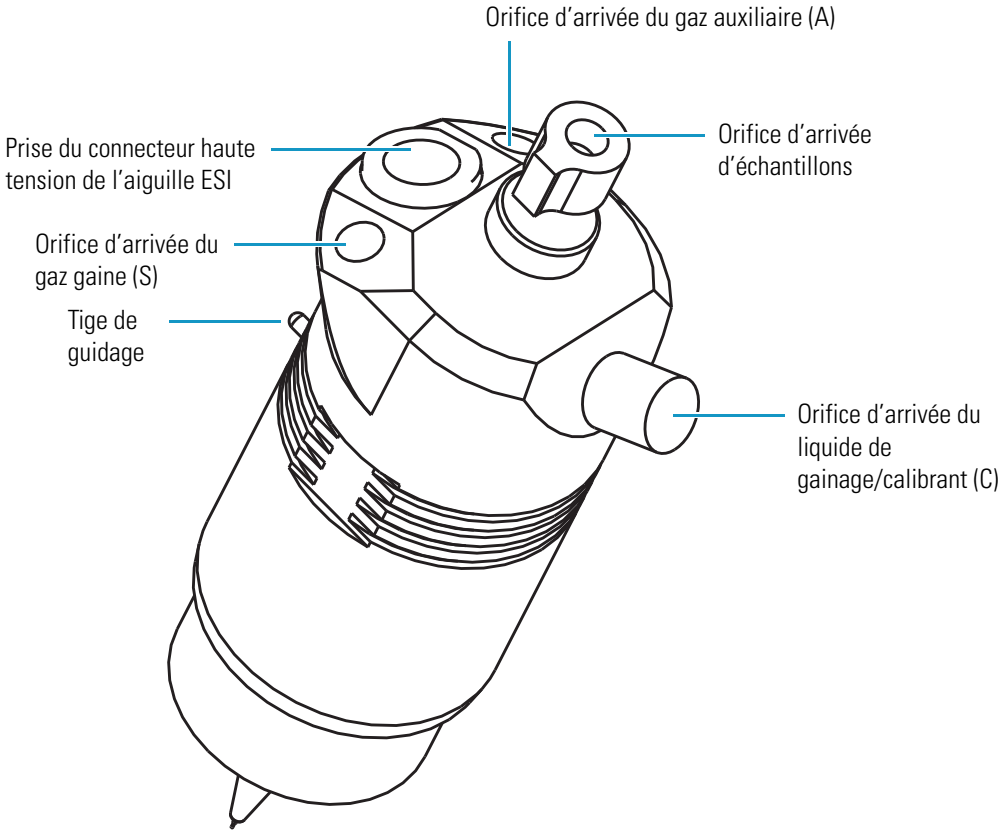

Orifice d'arrivée du gaz auxiliaire (A)
Prise du connecteur haute tension de l'aiguille ESI
Orifice d'arrivée d'échantillons
Orifice d'arrivée du gaz gaine (S)
Tige de guidage
Orifice d'arrivée du liquide de gainage/calibrant (C)

Figure 11. Sonde H-ESI

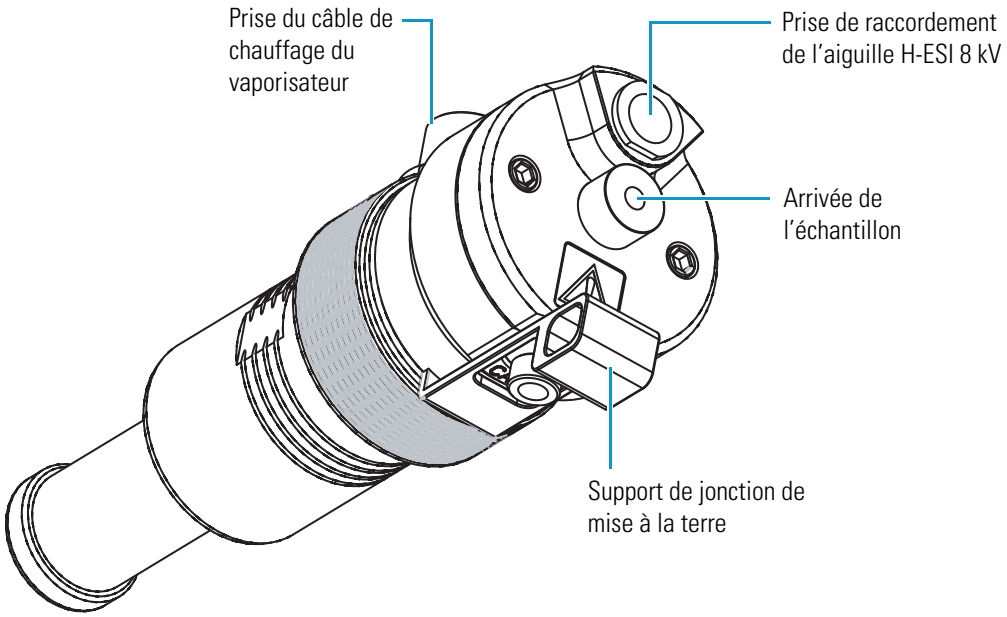
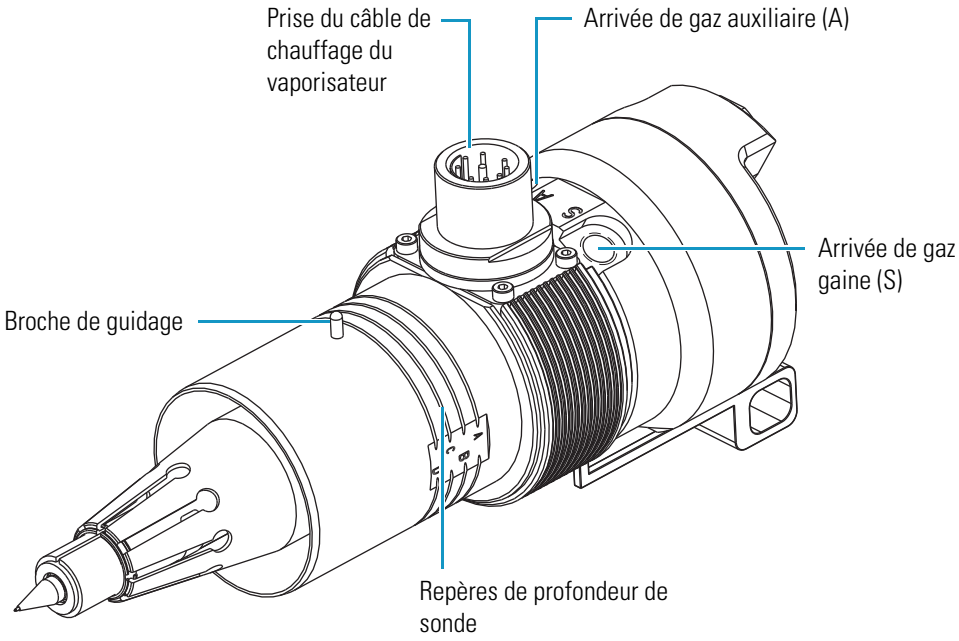

Prise du câble de chauffage du vaporisateur
Prise de raccordement de l'aiguille H-ESI 8 kV
Arrivée de l'échantillon
Support de jonction de mise à la terre

Figure 12. Sonde HESI-II


Prise du câble de chauffage du vaporisateur
Arrivée de gaz auxiliaire (A)
Arrivée de gaz gaine (S)
Broche de guidage
Repères de profondeur de sonde

4. Enfoncez la sonde dans l'orifice jusqu'à ce que la tige de guidage atteigne l'anneau de serrage qui se trouve sur le boîtier de la source d'ions.
5. Tournez la sonde de 45 degrés dans le sens des aiguilles d'une montre et alignez la tige de guidage sur le logement du bloc de verrouillage ESI (il vous faudra peut-être tirer légèrement la sonde vers vous pour aligner correctement la tige sur l'encoche). Après avoir suffisamment tourné la sonde pour aligner la tige sur l'encoche qui se trouve à l'arrière de l'orifice, enfoncez la sonde jusqu'à ce que la tige de guidage atteigne le fond de l'encoche.
6. Verrouillez la sonde en tournant le bouton de verrouillage dans le sens des aiguilles d'une montre.
7. Vérifiez que la jonction de mise à la terre (raccord ZDV en acier inoxydable) est installée dans la barre de terre sur la source Ion Max ou Ion Max-S (ESI) ou sur le support de jonction de mise à la terre sur la sonde H-ESI ou HESI-II. Voir la Figure 13 (ESI) et la Figure 14 (HESI-II).
8. Branchez le raccord (bleu) du gaz gaine à l'orifice d'arrivée correspondant (S) qui se trouve sur la sonde.
9. Branchez le raccord (vert) du gaz auxiliaire de l'orifice d'arrivée correspondant (A) qui se trouve sur la sonde.
10. Pour la sonde H-ESI ou HESI-II, raccordez le câble de chauffage du vaporisateur à sa prise située sur la sonde H-ESI ou HESI-II.

Figure 13. Sonde ESI installée

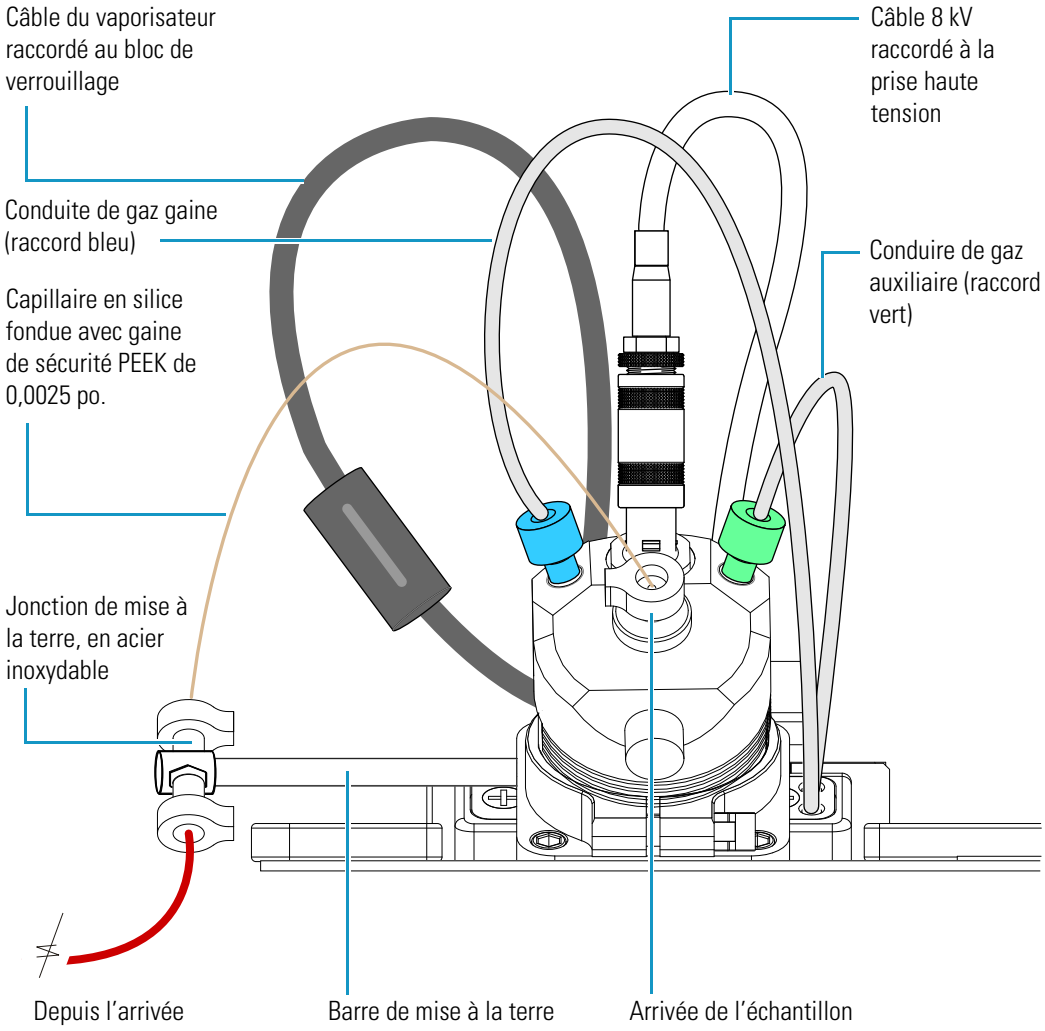
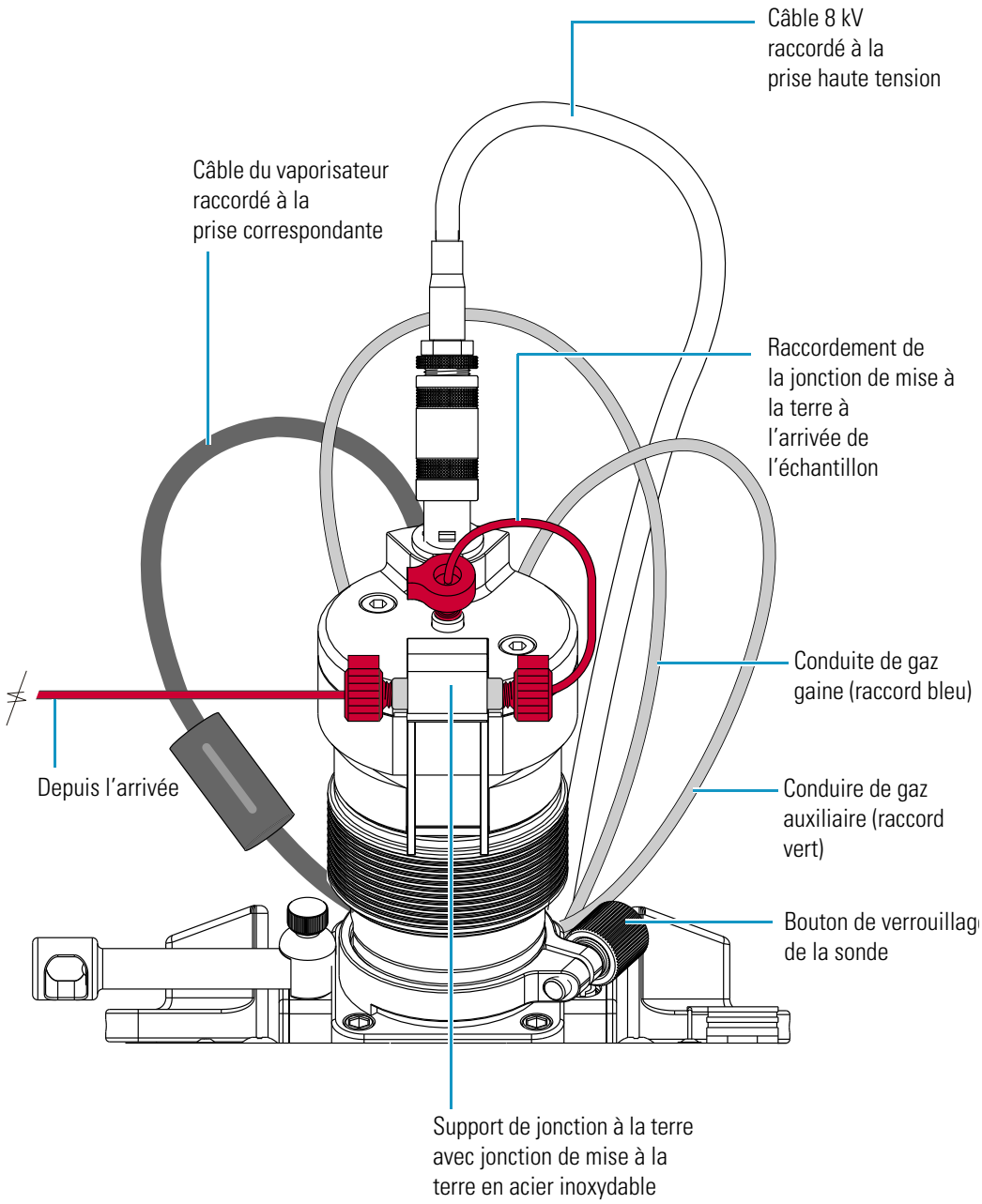

Câble du vaporisateur raccordé au bloc de verrouillage
Câble 8 kV raccordé à la prise haute tension
Conduite de gaz gaine (raccord bleu)
Conduire de gaz auxiliaire (raccord vert)
Capillaire en silice fondue avec gaine de sécurité PEEK de 0,0025 po.
Jonction de mise à la terre, en acier inoxydable
Depuis l'arrivée
Barre de mise à la terre
Arrivée de l'échantillon

Figure 14. Sonde HESI-II installée



11. Branchez le câble 8 kV à la prise haute tension de l'aiguille ESI sur la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II. Voir la Figure 10 et la Figure 11. Serrez la bague de blocage sur le connecteur 8 kV.
12. Branchez le tube de transfert des échantillons (ligne LC) à la jonction de mise à la terre.

La source ESI, H-ESI ou HESI-II est à présent installée sur le spectromètre de masse.

Remarque Avant d'analyser les échantillons avec la source d'ions ESI, H-ESI ou HESI-II, vous devez passer en mode ESI ou H-ESI avec Quantum EZ Tune ou Tune Master. Choisissez **Setup (Configuration) > Change Ion Source (Changer la source d'ions) > ESI** ou **Setup > Change Ion Source > HESI**.

Maintenez le système LC/MS en mode veille et passez au chapitre suivant Réglage et étalonnage du spectromètre de masse en mode ESI/MS ou H-ESI/MS.

Réglage et étalonnage du spectromètre de masse

Ce chapitre décrit les procédures de réglage et d'étalonnage du spectromètre de masse. Ces procédures utilisent une solution de réglage et d'étalonnage, introduite directement dans l'instrument à un débit lent. Pour des performances optimales sur toute la gamme de masses du détecteur, vous devez régler et étalonner l'instrument tous les mois ou au moins tous les trois mois.

Remarque En plus du réglage et de l'étalonnage décrits dans ce chapitre, vous devez effectuer un étalonnage en masse élevée pour les modèles TSQ Quantum™ Access™, TSQ Quantum Access MAX, TSQ Quantum Ultra EMR™ et TSQ Vantage™ EMR, et un étalonnage en masse précise pour les TSQ Quantum Ultra™ AM et TSQ Vantage AM.

Le réglage et l'étalonnage du spectromètre de masse requiert les actions suivantes décrites dans ce chapitre :

- Perfusion d'une solution de réglage et d'étalonnage de faible concentration contenant de la polytyrosine - 1,3,6 directement dans la source ESI, H-ESI ou HESI-II) à l'aide d'une pompe seringue.
- Test de l'efficacité et de la stabilité du spray de la solution de réglage et d'étalonnage dans le spectromètre de masse. Vous pouvez observer les ions positifs à charge unique suivants pour la polytyrosine monomère, trimère et hexamère : *m/z* 182, *m/z* 508 et *m/z* 997, respectivement.
- Exécution du réglage et de l'étalonnage automatiques
- Enregistrement des fichiers de réglage et d'étalonnage

Contenu

- Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par perfusion directe
- Configuration pour le réglage et l'étalonnage automatiques
- Création d'un faisceau d'ions stable
- Vérification du fonctionnement en mode ESI/MS et H-ESI/MS
- Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions positifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS
- Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs en mode ESI/MS et H-ESI/MS
- Nettoyage du système après le réglage et l'étalonnage

Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par perfusion directe

Le dispositif d'introduction d'échantillon que vous utilisez pour le réglage et l'étalonnage de l'ESI ou H-ESI est une pompe seringue. Une pompe seringue permet de perfuser la solution de réglage et d'étalonnage directement dans la source ESI, H-ESI ou HESI-II pendant des périodes prolongées.

La seringue et la pompe seringue se trouvent sur le panneau avant du spectromètre de masse TSQ . Les raccordements de tubes pour l'introduction des échantillons ESI/MS et H-ESI/MS depuis la pompe seringue sont illustrés à la Figure 15 et à la Figure 16.

Figure 15. Raccordements ESI/MS pour l'introduction d'échantillons par perfusion directe à l'aide de la pompe seringue

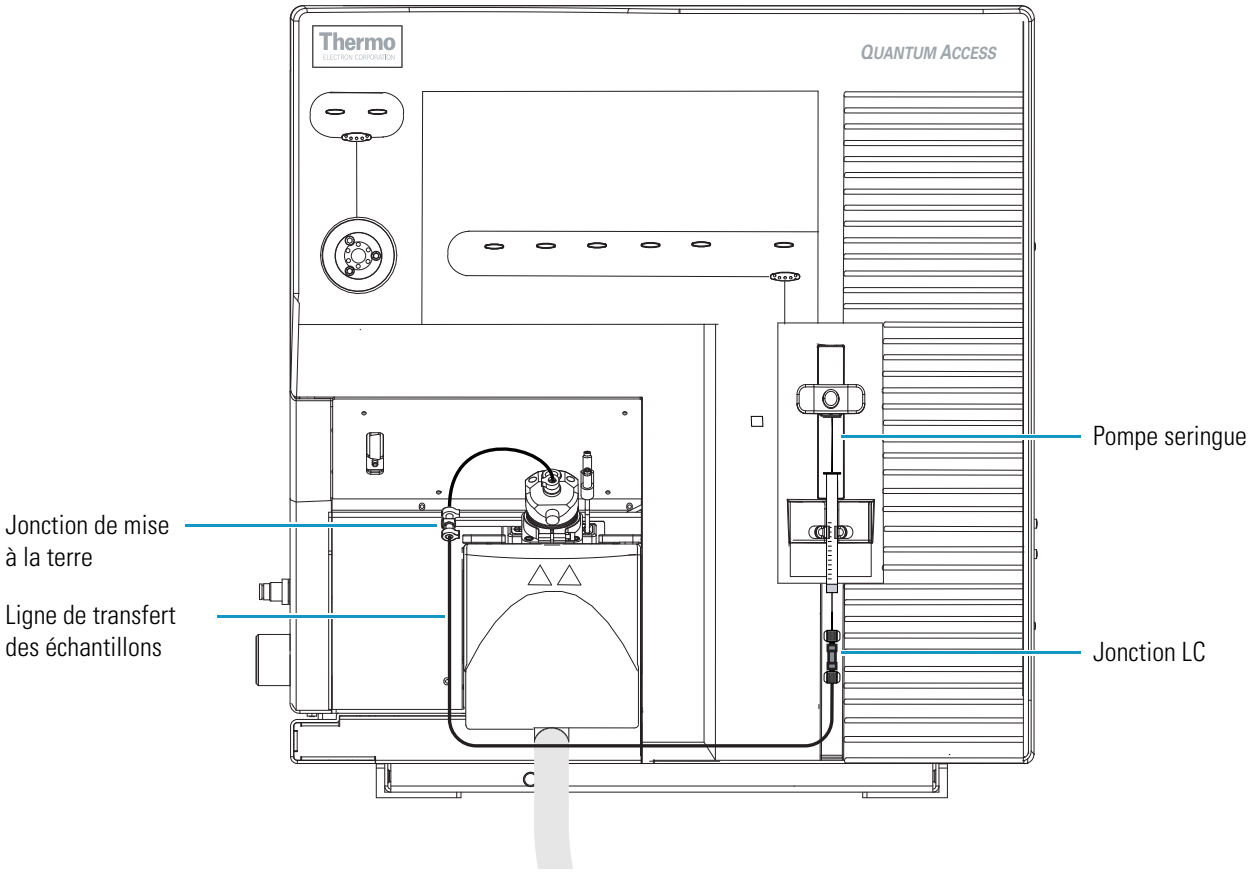
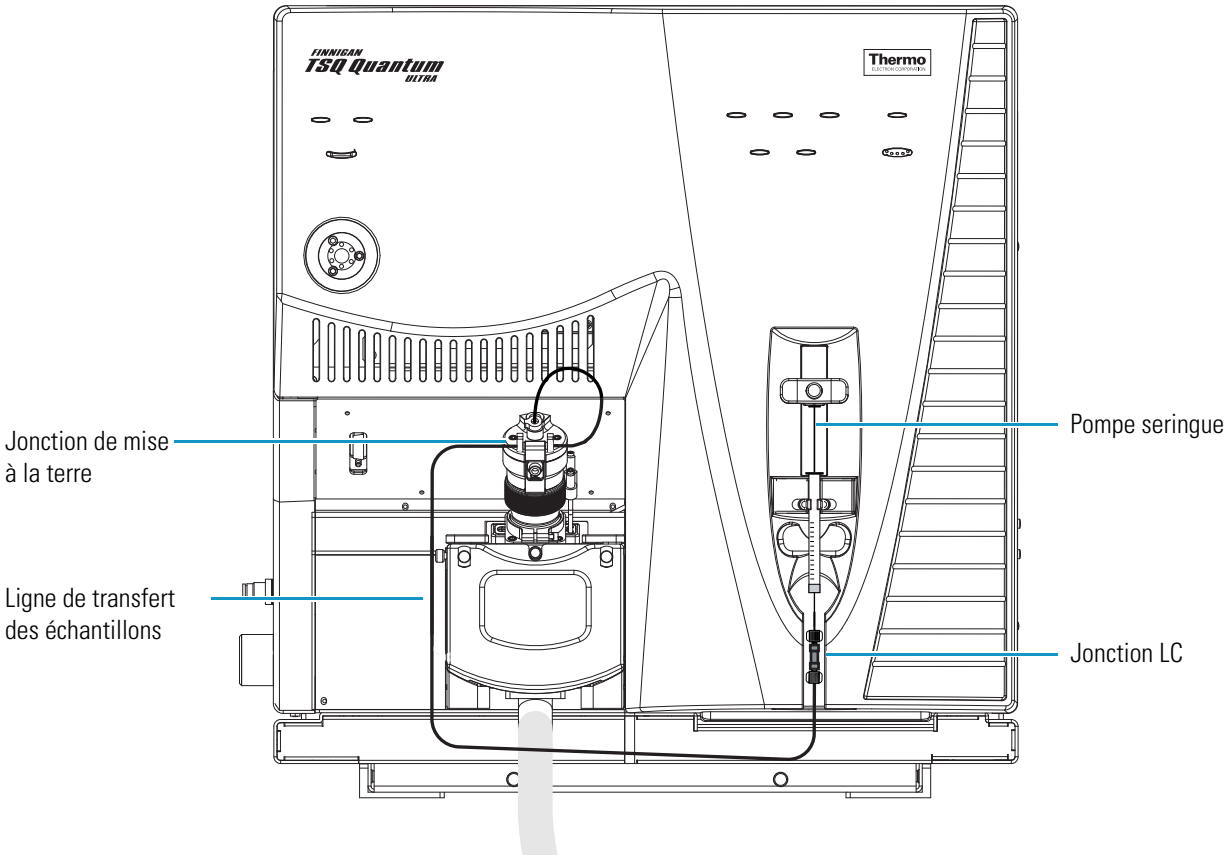


Figure 16. Raccordements H-ESI/MS pour l'introduction d'échantillons par injection directe à l'aide de la pompe seringue



Pour introduire une solution de réglage et d'étalonnage, vous devez installer une seringue contenant ladite solution dans la pompe seringue.

Avant de commencer la procédure, vous devez également mettre le système LC/MS en veille, comme indiqué à la section « Mise du système LC/MS en veille » à la page 9.

❖ **Pour configurer la pompe seringue de sorte à introduire une solution de réglage et d'étalonnage dans la source ESI, H-ESI ou HESI-II**

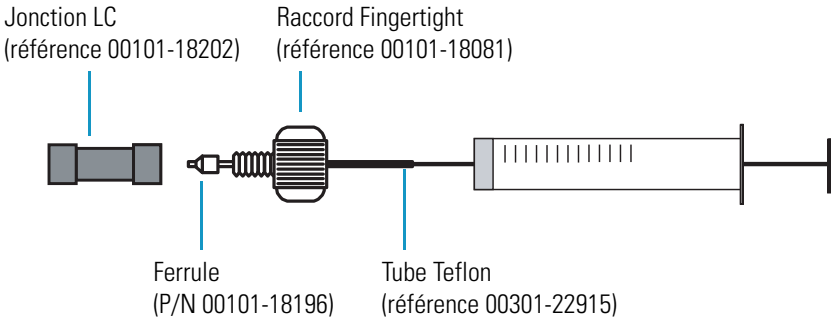
Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée, utilisez pour la solution de réglage et d'étalonnage une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et la solution d'optimisation.

1. Chargez une seringue propre de 500 µL d'environ 420 µl solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine - 1,3,6. (Pour la procédure de préparation de la solution de réglage et d'étalonnage, voir l'Annexe C, Préparation de solutions.)

Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée de l'adaptateur, veillez à essuyer l'extrémité de l'aiguille avec un tissu propre et non pelucheux avant de la réinsérer dans l'adaptateur de seringue.

2. Tout en maintenant le piston de la seringue en place, insérez avec précaution l'extrémité de l'aiguille dans le tube Teflon™ de l'adaptateur de seringue. Voir la Figure 17.

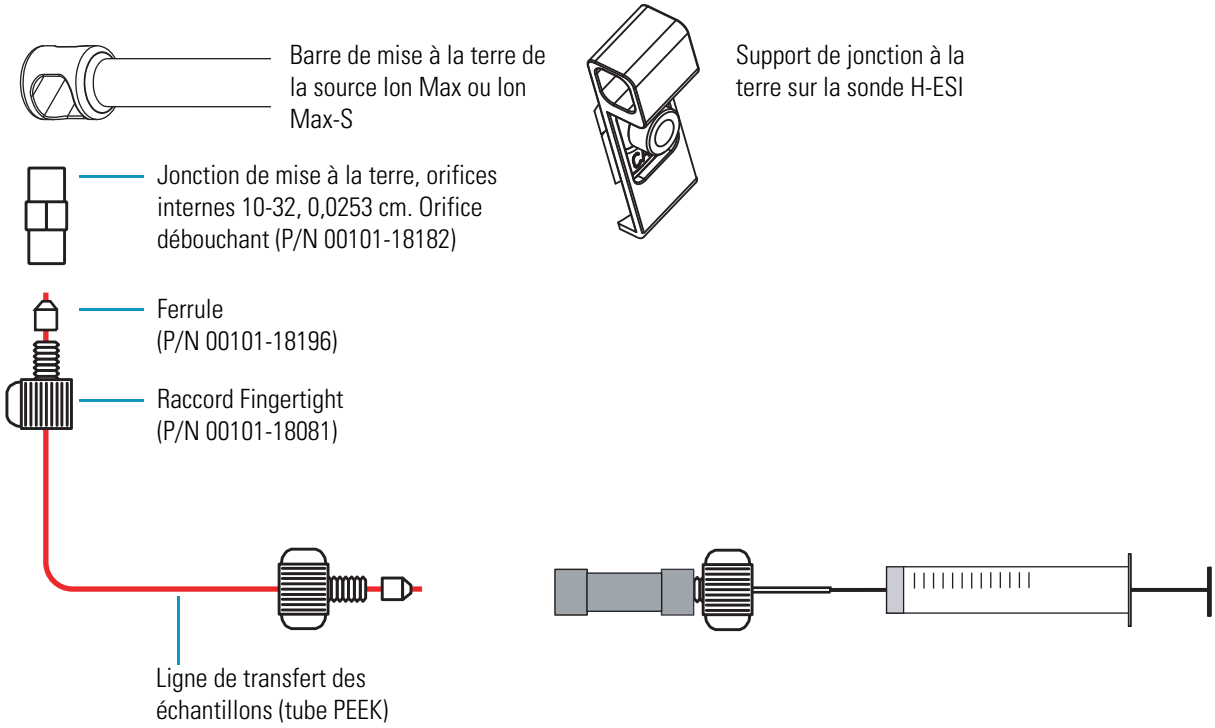
Figure 17. Seringue et adaptateur de seringue



3. Raccordez l'adaptateur de seringue à la jonction LC.
4. Raccordez le tube de transfert PEEK aux jonctions LC et de mise à la terre (voir la Figure 18). Les jonctions LC et de mise à la terre sont dotées d'orifices d'entrée 10-32 à bas conique.
5. Insérez la jonction de mise à la terre dans le support ou la barre de mise à la terre.

MISE EN GARDE Vérifiez que la jonction de mise à la terre est entièrement insérée dans le support ou la barre de mise à la terre. Dans le cas contraire, une électrocution pourrait se produire.

Figure 18. Raccordements de la ligne de perfusion entre la jonction LC et la jonction de mise à la terre


Barre de mise à la terre de la source Ion Max ou Ion Max-S
Support de jonction à la terre sur la sonde H-ESI
Jonction de mise à la terre, orifices internes 10-32, 0,0253 cm. Orifice débouchant (P/N 00101-18182)
Ferrule
(P/N 00101-18196)
Raccord Fingertight
(P/N 00101-18081)
Ligne de transfert des échantillons (tube PEEK)

6. Placez la seringue dans le porte-seringue de la pompe seringue.
7. Appuyez sur le bouton noir du manche de la pompe seringue tout en appuyant sur le manche jusqu'à ce qu'il entre en contact avec le piston.

Allez à la section suivante « Configuration pour le réglage et l'étalonnage automatiques ».

Configuration pour le réglage et l'étalonnage automatiques

Pour garantir des performances optimales du réglage et de l'étalonnage automatiques, vérifiez que l'instrument est correctement configuré.

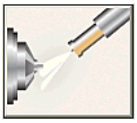
MISE EN GARDE S'il manque d'azote, le spectromètre de masse TSQ se met automatiquement hors tension pour éviter que l'oxygène de l'atmosphère ne pénètre dans la source d'ions.
La présence d'oxygène dans la source d'ions peut être dangereuse lorsque le détecteur MS est sous tension De plus, si le spectromètre de masse TSQ se met automatiquement hors tension pendant une analyse, vous risquez de perdre des données.

❖ Pour configurer le spectromètre de masse en vue du réglage et de l'étalonnage

1. Dans la barre des tâches Windows, sélectionnez **Démarrer > Tous les programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** pour ouvrir la fenêtre EZ Tune.

Marche
Arrêt
Veille

2. Dans EZ Tune, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse sous tension. (Les trois différents états du bouton On/Standby sont illustrés ci-contre.) La mise sous tension du spectromètre de masse initialise les opérations suivantes :
   - Le spectromètre de masse commence le balayage.
   - Le flux d'azote commence à passer dans la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II.
   - Le spectromètre de masse applique une haute tension à la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II.
   - EZ Tune affiche les résultats en temps réel dans la vue du spectre.



3. Cliquez sur le bouton **Ion Source Devices** pour afficher la boîte de dialogue Ion Source Devices. Voir la Figure 19 ou la Figure 20.
4. Fixez les valeurs des différents dispositifs dépendant d'un composé sur les valeurs indiquées à la Figure 19 ou à la Figure 20 :
   a. Dans la boîte de dialogue Ion Source Devices, sélectionnez un dispositif afin de le mettre en surbrillance. (Vérifiez que la case correspondante n'est pas cochée.)
   b. Dans la zone Device, tapez le réglage du dispositif ou utilisez les flèches vers le haut et vers le bas
   c. Effectuez les étapes étape 4a et b pour tous les dispositifs indiqués dans la Figure 19 ou la Figure 20.
   d. Patientez jusqu'à ce que les valeurs actuelles des dispositifs soient similaires aux valeurs définies.

Figure 19. Boîte de dialogue Ion Source Devices (Dispositifs de la source d'ions) du TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Access et TSQ Quantum Access MAX

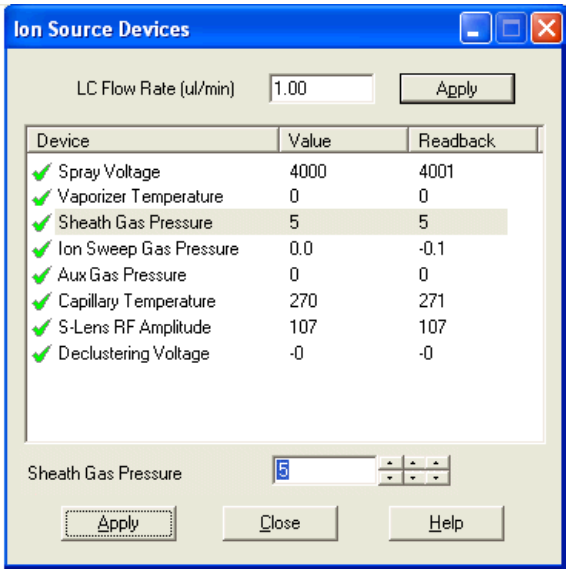
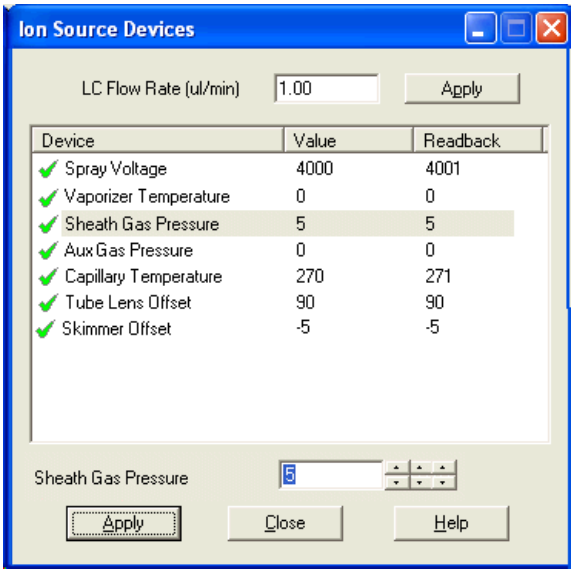
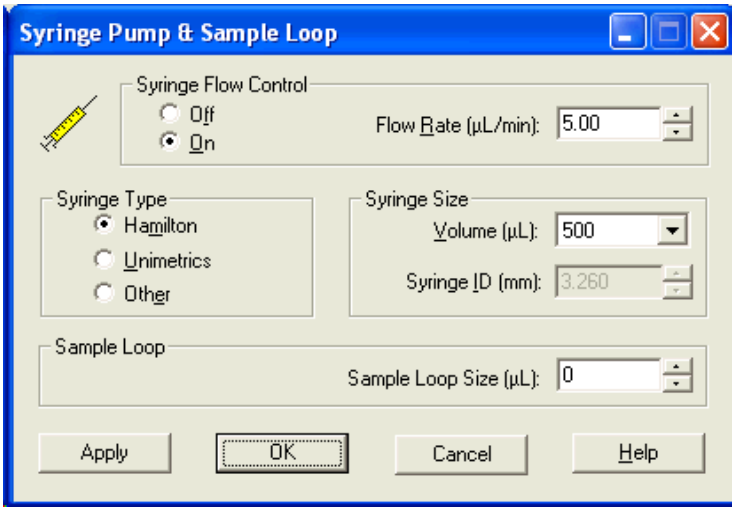


Figure 20. Boîte de dialogue Ion Source Devices du TSQ Quantum Ultra ou TSQ Quantum Access



5. Configurez la pompe seringue de sorte qu'elle injecte la solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine - 1,3,6. Ensuite, démarrez la pompe seringue :
   a. Choisissez **Setup > Syringe Pump & Sample Loop** pour afficher la boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop. Voir la Figure 21.
   b. Dans la zone Syringe Flow Control, sélectionnez l'option **On** pour activer la zone Flow Rate.
   c. Dans la zone Flow Rate, entrez **2,00** pour définir un débit de 2,00 µL/min. (Pour obtenir une intensité et une stabilité de faisceau d'ions optimale, vous pouvez régler le débit entre 1,00 et 10,00 µL/min.)

Figure 21. Boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop



- Si vous utilisez une seringue Unimetrics™ ou Hamilton™, allez à l'étape 5d.
- Pour tous les autres types de seringue, allez à l'étape 5f.

d. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option qui convient, **Unimetrics** ou **Hamilton**.

e. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez **500** (ou le volume de la seringue) dans la liste Volume pour indiquer que le volume de la seringue est de 500 µl.

Lorsque vous indiquez le type et le volume de la seringue, Tune Master définit automatiquement l'ID de seringue adéquate. Allez à l'étape 5g.

f. Si vous n'utilisez pas de seringue Unimetrics ou Hamilton, indiquez manuellement le diamètre intérieur de la seringue comme suit :

i. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option **Other** pour indiquer l'utilisation d'une seringue autre qu'une seringue Unimetrics ou Hamilton et activer la zone Syringe ID située dans la zone Syringe Size.

ii. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez le volume correspondant à la seringue dans la liste Volume.

iii. Dans la zone Syringe ID, entrez le diamètre intérieur de la seringue.

g. Pour appliquer ces réglages et démarrer la pompe seringue, cliquez sur **Apply**. Le flux de solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine - 1,3,6 s'écoule dans la source d'ions.

Le spectromètre de masse est désormais configuré pour le réglage et l'étalonnage.

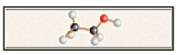
Pour créer un faisceau d'ions stable, allez à la section suivante « Création d'un faisceau d'ions stable ».

Création d'un faisceau d'ions stable

Avant d'entamer la procédure de réglage et d'étalonnage, vous devez créer un faisceau d'ions stable. L'intensité et la stabilité du faisceau d'ions dépendent en grande partie du fonctionnement de la source d'ions. Pour optimiser l'intensité et la stabilité du faisceau d'ions, réglez la pression du gaz gaine.

❖ Pour créer un faisceau d'ions stable

1. Définissez les réglages de balayage afin de préparer l'analyse de l'intensité et de la stabilité du faisceau d'ions (voir la Figure 22) :



   a. Dans EZ Tune, cliquez sur le bouton **Define Scan** pour afficher la boîte de dialogue Define Scan.

   b. Dans la boîte de dialogue Define Scan, sélectionnez **Full Scan** dans la zone Scan Type. La zone Scan Parameters est activée. Voir la Figure 22.

   c. Dans la zone Scan Mode, sélectionnez **Q1MS** afin d'utiliser le mode de balayage Q1MS.

   d. Dans la zone Scan Range située dans la zone Scan Parameters, sélectionnez l'option **Center Mass**. La liste Center Mass et la zone Scan Width sont activées.

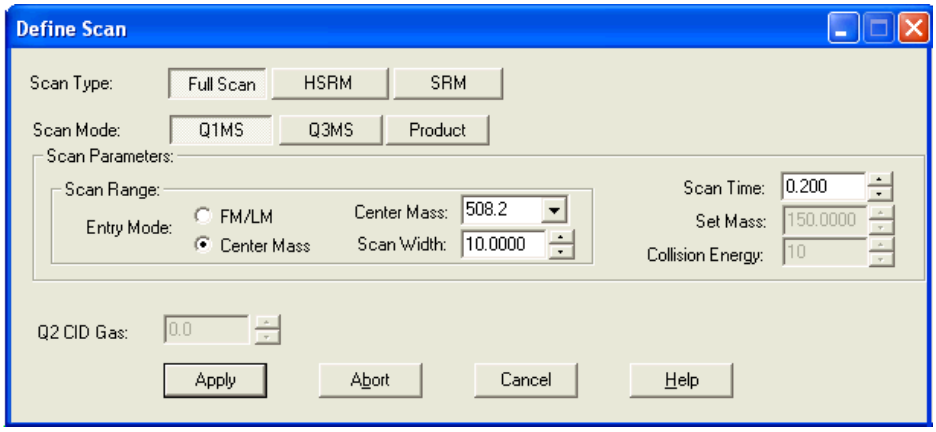
   e. Dans la liste Center Mass, sélectionnez **508,208** pour définir le centre de la plage de balayage sur 508,208 u.

   f. Dans la zone Scan Width, entrez **10,000** pour définir la largeur de balayage sur 10,000 u.

   g. Dans la zone Scan Time, entrez **0,20** pour fixer la vitesse de balayage à 0,20 s.

   h. Pour appliquer ces réglages de balayage, cliquez sur **Apply**. Voir la Figure 22.

Figure 22. Réglages standard permettant de créer un courant d'ions stable dans la boîte de dialogue Define Scan



2. Cliquez sur le bouton **Display TIC** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour démarrer l'affichage d'un courant d'ions dans la vue graphique située dans la partie inférieure droite de l'espace de travail.

Profile (Profil)

Centroid (Centroïde)

3. Mettez le spectromètre de masse en mode profil pour afficher des données en profil. Si l'état du bouton **Profile/Centroid** est Centroid (Centroïde) (comme illustré ci-contre), cliquez dessus pour passer à l'affichage des données en profil.

Polarité ions positifs

Polarité ions négatifs

4. Mettez le spectromètre de masse en polarité ions positifs. Déterminez la polarité du spectromètre de masse : pour cela, vérifiez la position du bouton Polarity (illustré ci-contre). Vérifiez que le bouton Polarity se trouve en polarité ions positifs.

5. Vérifiez que les autres paramètres dépendant des composés sont aux valeurs indiquées à la Figure 19 ou à la Figure 20.

6. Vérifiez que le faisceau d'ions est stable :

   a. Dans la vue du spectre située dans la partie inférieure gauche de l'espace de travail, observez le spectre de masse de l'ion à *m/z* 508,208.

   b. Choisissez **Display > Zoom > Normalize** afin de pouvoir observer l'intensité relative des ions à *m/z* 508,208. Voir la Figure 23.

      Remarque Vous pouvez régler la pression du gaz gaine entre 0 et 15 psi pour obtenir un faisceau d'ions stable. Une pression de gaz gaine trop faible entraîne une perte de stabilité du signal et une pression trop élevée peut provoquer une perte d'intensité du pic.

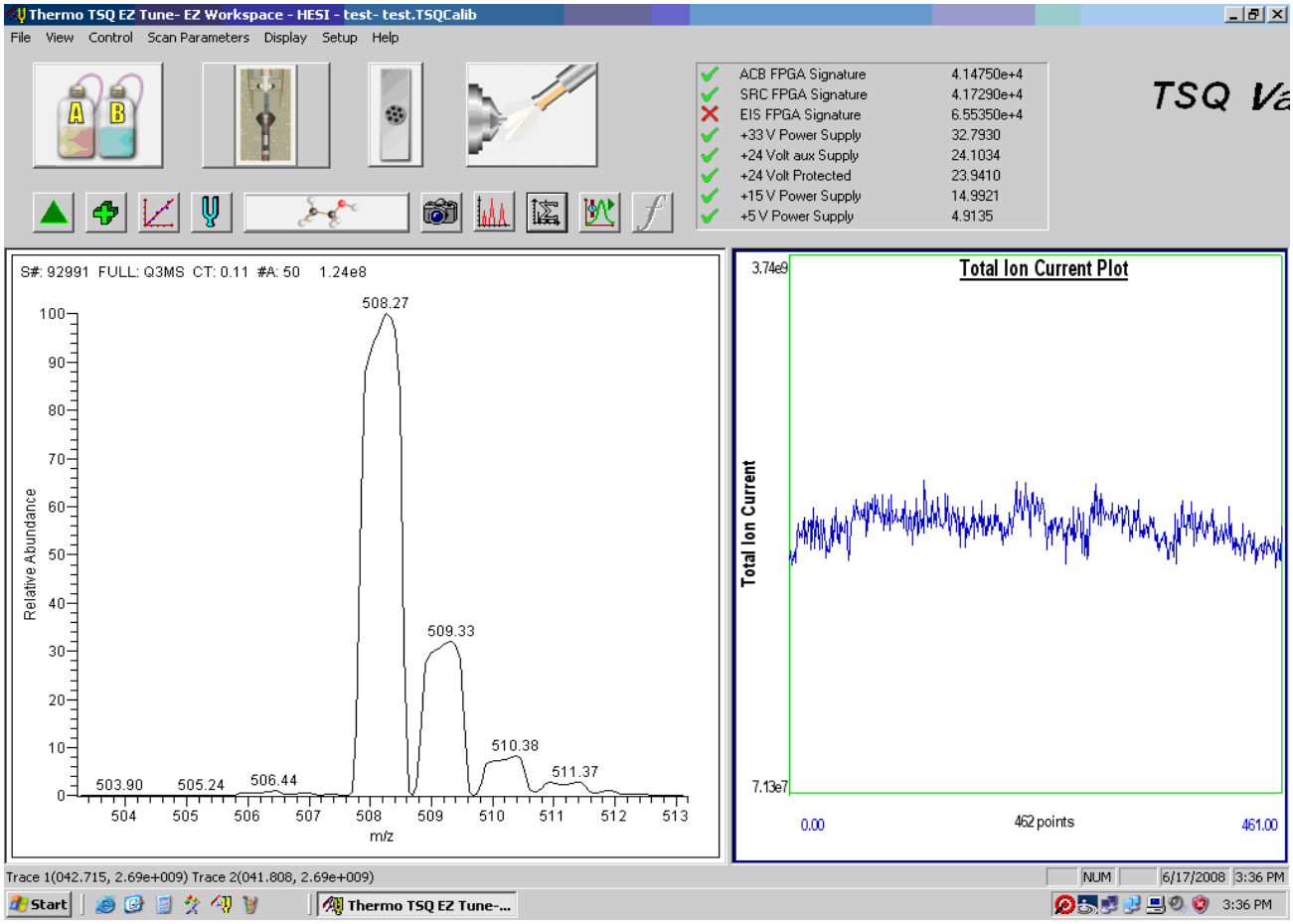
   c. Observez la hauteur du pic à *m/z* 508,208 dans la vue du spectre.

      - Si le sommet du pic est régulier, le faisceau d'ions est stable, vous n'avez pas besoin de régler la pression du gaz gaine. La hauteur du pic ne doit pas varier de plus de 30 pour cent environ d'un balayage à un autre.
      - Si le sommet du pic est irrégulier, vous devez régler la pression du gaz gaine pour créer un faisceau d'ions stable. Vous pouvez également observer les fluctuations du courant d'ions dans la vue graphique située dans la partie inférieure droite de l'espace de travail.

      Remarque Il existe une relation entre la tension du spray, la pression du gaz gaine et le débit de la solution d'échantillon. Il vous faudra donc peut-être modifier ces trois réglages pour obtenir un faisceau d'ions stable.

Lorsque vous obtenez un faisceau d'ions stable, modifiez les paramètres de balayage afin d'observer les autres pic de la polytyrosine dans la vue du spectre. Voir la description à la section suivante, « Vérification du fonctionnement en mode ESI/MS et H-ESI/MS ».

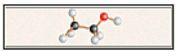
Figure 23. Spectre et tracé TIC en temps réel de la polytyrosine 3 illustrant un faisceau d'ions stable



Vérification du fonctionnement en mode ESI/MS et H-ESI/MS

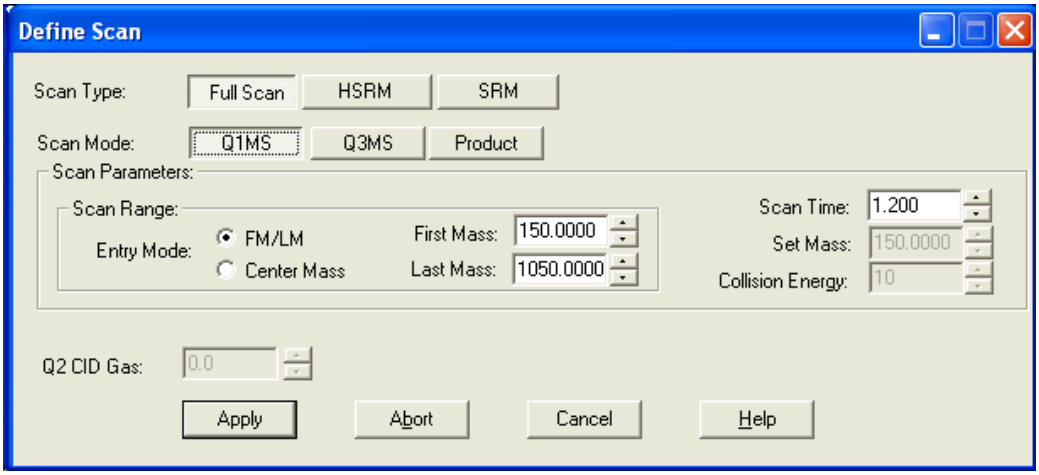
À présent, vous êtes prêt à vérifier le fonctionnement correct du spectromètre de masse. Pour cela, injectez la solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine directement dans la source ESI, H-ESI ou HESI-II, puis surveillez le spectre de masse de la solution.

❖ Pour surveiller le spectre de masse de la solution de réglage et d'étalonnage



1. Dans EZ Tune, cliquez sur le bouton **Define Scan** pour afficher la boîte de dialogue Define Scan.
2. Dans la boîte de dialogue Define Scan, modifiez les paramètres de balayage afin de vérifier le fonctionnement du spectromètre de masse en mode Q1 :
   a. Dans la zone Scan Range de la zone Scan Parameters, sélectionnez l'option **FM/LM** dans la zone Entry Mode. Les zones First Mass et Last Mass s'affichent. Voir la Figure 24.
   b. Entrez 150 dans la zone First Mass pour démarrer le balayage à **150,000 u**.
   c. Entrez 1050 dans la zone Last Mass pour finir le balayage à **1050,000 u**.
   d. Dans la zone Scan Time, entrez **1,20** pour définir la durée de balayage sur 1,20 s.
   e. Pour appliquer ces réglages de balayage, cliquez sur **Apply**.

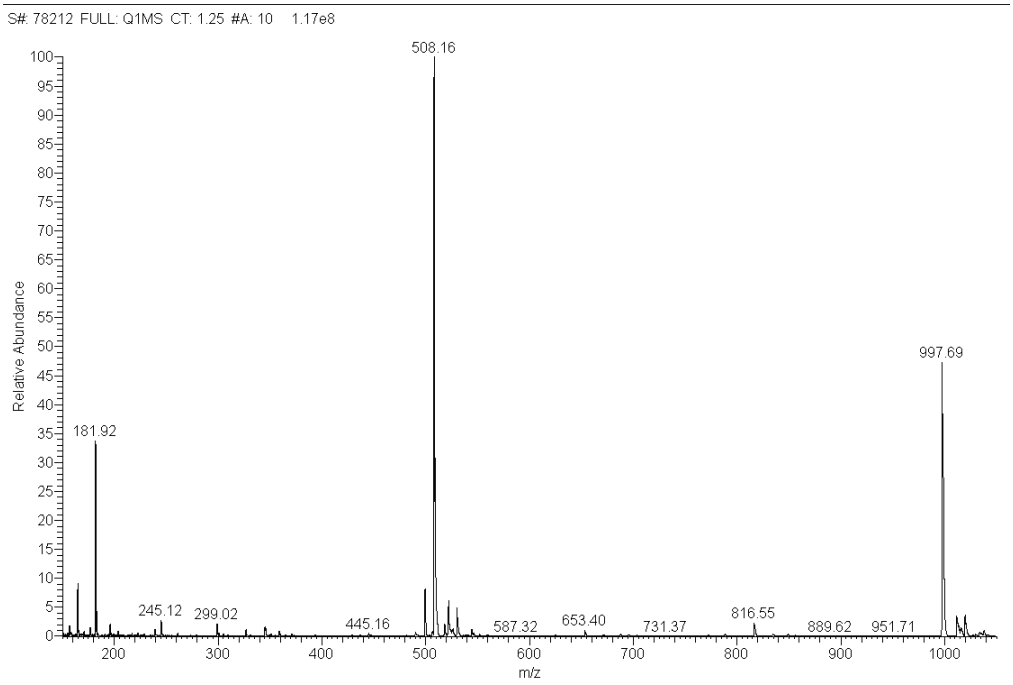
Figure 24. Réglages standard permettant de tester le fonctionnement du spectromètre de masse en mode Q1MS dans la boîte de dialogue Define Scan



3. Appliquez une moyenne de spectre :
   a. Choisissez **Scan Parameters > Configure Spectrum Averaging** pour ouvrir la boîte de dialogue Configure Spectrum Averaging.
   b. Sélectionnez l'option **Average,** puis entrez **10** dans la zone.
   c. Cliquez sur **Apply**, puis sur **OK**.
4. Suivez la solution de réglage et d'étalonnage en mode Q1 :
   a. Choisissez **Display > Zoom > Normalize** pour normaliser le spectre.
   b. Dans la vue du spectre, observez le spectre de masse des ions à charge unique de la solution de réglage et d'étalonnage. Les ions sont les suivants :
      - Monomère de la tyrosine : *m/z* 182,082
      - Trimère de la tyrosine : *m/z* 508,208
      - Hexamère de la tyrosine : *m/z* 997,398

Observez les valeurs du signal de courant d'ions normalisé dans la vue du spectre. Voir la Figure 25.

Figure 25. Spectre en temps réel de la solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine dans la vue du spectre



5. Tandis que la solution de réglage et d'étalonnage est détectée et que les valeurs appliquées fluctuent, répondez aux questions suivantes relatives au signal du courant d'ions normalisé

   - Les trois ions de la polytyrosine sont-ils prédominants ?
   - Les hauteurs des polymères de la tyrosine sont-elles dans une échelle de 1 à 10 ?
   - Les hauteurs de pics de polytyrosine sont-elles aux alentours de 10^6 pour le TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX, et TSQ Quantum Ultra ou de 10^7 (en mode profil) pour le TSQ Vantage ?
   - Le signal est-il stable (avec une variation inférieure à 15 pour cent environ entre chaque balayage) ?
   - Les pics de la solution de réglage et d'étalonnage sont-ils symétriques, résolus et non dédoublés ?

   Si la réponse est Oui à toutes ces questions, le spectromètre de masse fonctionne correctement en mode Q1MS.

   Remarque Vous pouvez modifier les réglages pour créer un signal correct de la solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine. Vous pouvez régler la pression du gaz gaine entre 0 et 15 psi, le débit du gaz auxiliaire entre 0 et 5 (unités arbitraires) et le débit de la solution de réglage et d'étalonnage entre 1 et 15 µl/min.

   Si la réponse est Non à l'une des questions ci-avant, effectuez les procédures de dépannage suivantes, puis testez de nouveau le fonctionnement de l'instrument :

   - Modifiez la pression du gaz gaine ou le débit du gaz auxiliaire, ou changez le débit de la solution de réglage et d'étalonnage.
   - Vérifiez que le tube d'échantillonnage en silice fondue ne dépasse pas de l'extrémité de l'aiguille ESI.

- Vérifiez que l'entrée du capillaire de transfert des ions est propre.
- Vérifiez que la solution entrant dans la sonde ne contient pas de bulles d'air, et que les tubes et connecteurs ne présentent pas de fuite.

6. Modifiez les paramètres de balayage afin de vérifier le fonctionnement du spectromètre de masse en mode Q3 :
   a. Dans la boîte de dialogue Define Scan (Figure 24), sélectionnez **Q3MS** dans la zone Scan Mode pour activer le mode de balayage Q3.
   b. Vérifiez que les paramètres de balayage sont identiques à ceux définis pour le mode Q1.
   c. Pour appliquer ces paramètres de balayage, cliquez sur **Apply**.
7. Observez de nouveau les valeurs du signal de courant d'ions normalisé dans la vue du spectre. Si le spectre répond aux conditions définies à l'étape 5 ci-avant, le spectromètre de masse fonctionne correctement en mode Q3MS.

Vous êtes désormais prêt à régler et à étalonner le spectromètre de masse. Ne modifiez pas l'état du TSQ et allez à la section suivante « Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions positifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS ».

Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions positifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS

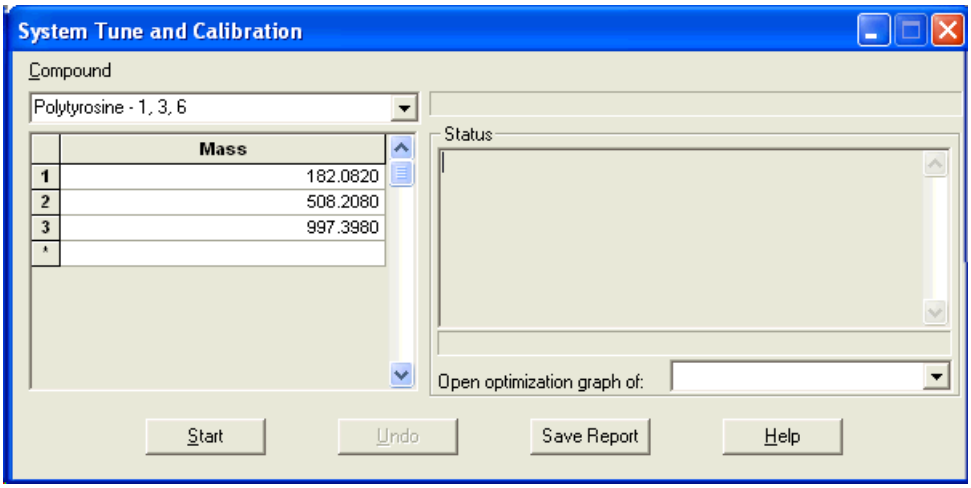
Vous êtes désormais prêt à régler et à étalonner le spectromètre de masse en mode ESI ou H-ESI. La procédure commence par régler l'instrument à l'aide de la solution de réglage et d'étalonnage, ce qui permet de créer un spray de solution stable et garantit qu'une quantité d'ions suffisante est détectée pour effectuer l'étalonnage du spectromètre de masse. L'étalonnage de l'instrument s'effectue alors automatiquement.

Effectuez la procédure de réglage et d'étalonnage régulièrement (tous les mois à tous les trois mois) pour garantir des performances optimales du spectromètre de masse.

❖ Pour régler et étalonner le spectromètre de masse automatiquement en polarité ions positifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS

1. Dans EZ Tune, choisissez **Setup > System Tune and Calibration** pour afficher la boîte de dialogue System Tune and Calibration. Voir la Figure 28.

Figure 26. Boîte de dialogue System Tune and Calibration

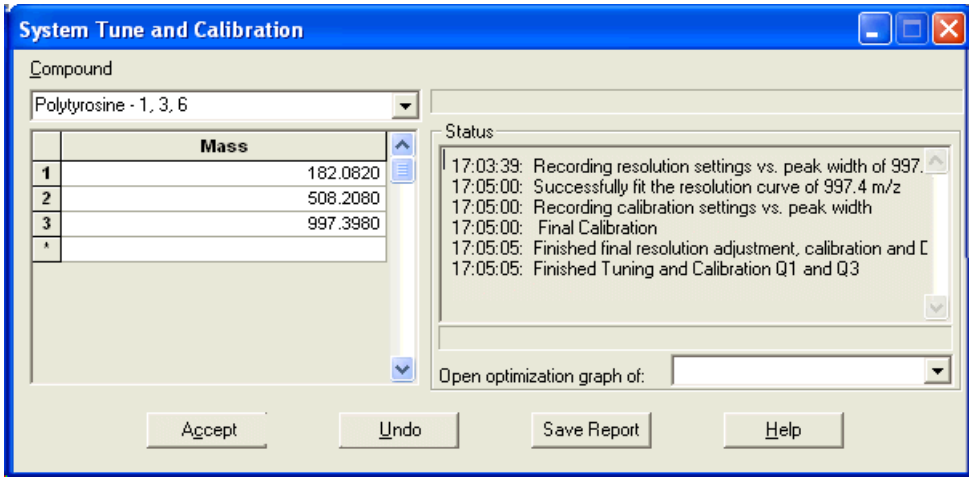


2. Dans la boîte de dialogue System Tune and Calibration, sélectionnez **Polytyrosine – 1,3,6** dans la liste Compound. Les trois ions positifs de la polytyrosine utilisés pour le réglage et l'étalonnage automatiques de l'instrument sont automatiquement sélectionnés (Figure 28).

3. Pour lancer le réglage et l'étalonnage automatiques, cliquez sur **Start**.

   La boîte Status (État) affiche des messages en temps réel concernant le réglage et l'étalonnage du système, pour vous permettre de surveiller la progression de chaque sous-procédure. À la fin d'une sous-procédure, EZ Tune indique les résultats (réussite ou échec par exemple). À la fin de la procédure complète, la boîte Status (État) affiche un récapitulatif. Voir la Figure 27.

Figure 27. Etat du réglage et de l'étalonnage système



   - Si des erreurs se produisent pendant le réglage et l'étalonnage automatiques, allez à l'étape 4.
   - Si le réglage et l'étalonnage automatiques se terminent sans erreur, allez à l'étape 5.

4. Si des erreurs se produisent pendant le réglage et l'étalonnage automatiques, restaurez les réglages précédents du spectromètre de masse et exécutez de nouveau le réglage et l'étalonnage de l'instrument en suivant les étapes ci-après :

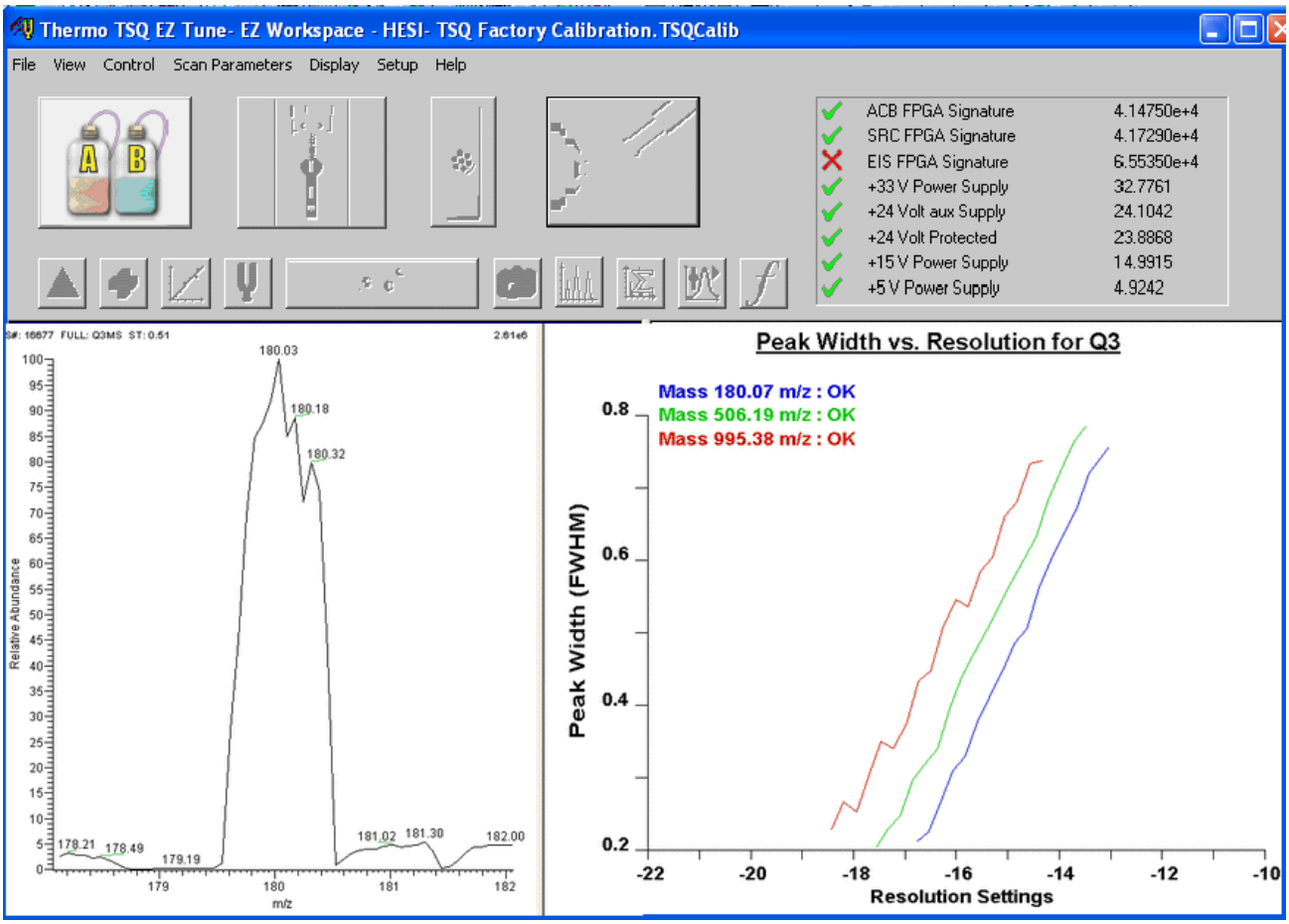
   a. Cliquez sur **Undo** pour restaurer les réglages précédents de réglage et d'étalonnage.

   b. Cliquez sur **Accept** pour recharger les réglages précédents de réglage et d'étalonnage du spectromètre de masse.

c. Analysez et corrigez les problèmes à l'origine de l'échec de la procédure.

d. Allez à l'étape 3 et recommencez le réglage et l'étalonnage.

Figure 28. Illustration d'EZ Tune pendant le réglage et l'étalonnage


Thermo TSQ EZ Tune- EZ Workspace - HESI- TSQ Factory Calibration.TSQCalib
File View Control Scan Parameters Display Setup Help
ACB FPGA Signature 4.14750e+4
SRC FPGA Signature 4.17290e+4
EIS FPGA Signature 6.55350e+4
+33 V Power Supply 32.7761
+24 Volt aux Supply 24.1042
+24 Volt Protected 23.8868
+15 V Power Supply 14.9915
+5 V Power Supply 4.9242
Relative Abundance
m/z
Peak Width vs. Resolution for Q3
Mass 180.07 m/z : OK
Mass 506.19 m/z : OK
Mass 995.38 m/z : OK
Peak Width (FWHM)
Resolution Settings

5. Pour accepter les résultats du réglage et de l'étalonnage automatiques, cliquez sur **Accept**.

Après avoir accepté les résultats du réglage et de l'étalonnage, un message vous invite ou non à copier les réglages de cette procédure en polarité ions positifs dans le mode ions négatifs.

- Si vous avez déjà réglé et étalonné l'instrument en polarité ions négatifs, cliquez sur **No**. (Ne copiez pas les réglages du mode ions positifs dans le mode ions négatifs.)
- Si vous n'avez pas réglé et étalonné l'instrument en polarité ions négatifs, cliquez sur **Yes**.

> **Remarque** Si vous envisagez d'effectuer une analyse de spectre de masse de haute sensibilité en polarité ions négatifs, effectuez un réglage et un étalonnage complets de l'instrument en polarité ions négatifs pour obtenir des résultats optimaux. Cette procédure est décrite à la section suivante « Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs en mode ESI/MS et H-ESI/MS » à la page 38.

- Pour enregistrer les nouveaux paramètres d'étalonnage comme étalonnage « courant », cliquez sur **Save Calib**. Lorsque vous cliquez sur Save Calibration (Enregistrer l'étalonnage), le précédent étalonnage « courant » devient le nouvel étalonnage « précédent ».

  Le TSQ affiche la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous).

6. Enregistrez le fichier de méthode de réglage :
   a. Dans la zone File Name, entrez le nom du fichier de méthode de réglage, par exemple, Réglage **ESI polytyrosine.TSQTune**.
   b. Cliquez sur **Save** pour enregistrer le fichier de méthode de réglage.

   Le spectromètre de masse est désormais réglé et étalonné en polarité ions positifs.

Le réglage et l'étalonnage en polarité ions négatifs vous offre deux possibilités :

- Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs : si vous envisagez d'effectuer une analyse de haute sensibilité en polarité ions négatifs, allez à la section suivante « Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs en mode ESI/MS et H-ESI/MS ».
- Copie du fichier d'étalonnage en polarité ions positifs dans le mode ions négatifs : choisissez **Scan Parameters > Copy Tune Values** pour copier le fichier d'étalonnage en polarité ions positifs dans le mode ions négatifs. Tous les réglages dépendant de la polarité dans le fichier d'étalonnage actif voient leur signe modifié. Les réglages indépendants de la polarité demeurent inchangés. Ces réglages ne sont pas conservés si vous n'enregistrez pas le fichier.

Réglage et étalonnage automatiques en polarité ions négatifs en mode ESI/MS et H-ESI/MS

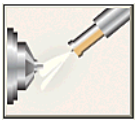
Une fois l'instrument réglé et étalonné en polarité ions positifs, vous avez la possibilité de le régler et de l'étalonner en polarité ions négatifs.

- Si vous avez déjà copié les réglages en polarité ions positifs dans le mode ions négatifs et que vous *ne souhaitez pas* effectuer d'analyse de spectre de masse de haute sensibilité en polarité ions négatifs, ignorez cette section. Allez à la section « Nettoyage du système après le réglage et l'étalonnage » à la page 40.
- Si vous *n'avez pas* copié lesdits réglages dans le mode ions négatifs ou si vous envisagez d'effectuer une analyse de spectre de masse de haute sensibilité en polarité ions négatifs, réglez et étalonnez le spectromètre de masse en polarité ions négatifs comme indiqué dans cette section.

❖ Pour régler et étalonner le spectromètre de masse automatiquement en polarité ions négatifs en mode ESI/MS ou H-ESI/MS

Polarité ions positifs
Polarité ions négatifs

1. Cliquez sur le bouton **Polarity** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour passer le détecteur en polarité ions négatifs.



2. Cliquez sur le bouton **Ion Source Devices** pour afficher la boîte de dialogue Ion Source Devices.
3. Appliquez une tension de spray de -3 000 V :
   a. Dans la colonne Device, sélectionnez l'option **Spray Voltage** pour la mettre en surbrillance. L'intitulé de la zone Device devient Spray Voltage.
   b. Dans la zone Spray Voltage, entrez **3000** pour appliquer une tension de spray de -3000 V.
4. Réglez la pression du gaz gaine sur 15 psi :
   a. Dans la colonne Device, sélectionnez l'option **Sheath Gas Pressure** pour la mettre en surbrillance. L'intitulé de la zone Device devient Sheath Gas.
   b. Dans la zone Sheath Gas, entrez **15** pour régler la pression du gaz gaine sur 15 psi.
5. Choisissez **Setup > System Tune and Calibration** pour afficher la boîte de dialogue System Tune and Calibration.
6. Dans la liste Compound (Composé), choisissez **Polytyrosine - Neg**. Ainsi les trois ions de polytyrosine chargés négativement que le système TSQ utilise pour le réglage et l'étalonnage automatiques sont sélectionnés.
7. Pour lancer le réglage et l'étalonnage automatiques, cliquez sur **Start**.

   Vous pouvez surveiller la progression du réglage et de l'étalonnage du système dans la zone Status. Lorsque l'ensemble de la procédure est terminé, la zone Status affiche un résumé.

   - Si des erreurs se produisent pendant le réglage et l'étalonnage automatiques, allez à l'étape 8.
   - Si le réglage et l'étalonnage automatiques se terminent sans erreur, allez à l'étape 9.

8. Si des erreurs se produisent pendant le réglage et l'étalonnage automatiques, restaurez les réglages précédents du spectromètre de masse et exécutez de nouveau le réglage et l'étalonnage de l'instrument en suivant les étapes ci-après :
   a. Cliquez sur **Undo** pour restaurer les réglages précédents de réglage et d'étalonnage.
   b. Cliquez sur **Accept** pour recharger les réglages précédents de réglage et d'étalonnage du spectromètre de masse.
   c. Analysez et corrigez les problèmes à l'origine de l'échec de la procédure.
   d. Allez à l'étape 7 et recommencez le réglage et l'étalonnage.
9. Pour accepter les résultats du réglage et de l'étalonnage automatiques, cliquez sur **Accept**.

   Après avoir accepté les résultats du réglage et de l'étalonnage, un message vous invite ou non à copier les réglages de cette procédure en polarité ions négatifs dans le mode de polarité ions positifs :

   - Si vous avez déjà réglé et étalonné l'instrument en polarité ions positifs, cliquez sur **No**. (Ne copiez pas les réglages du mode ions négatifs dans le mode ions positifs.)

- Si vous n'avez pas réglé et étalonné l'instrument en polarité ions positifs, cliquez sur **Yes**.

  Remarque Si vous envisagez d'effectuer une analyse de spectre de masse de haute sensibilité en polarité ions positifs, effectuez un réglage et un étalonnage complets de l'instrument en polarité ions positifs.

- Pour enregistrer les nouveaux paramètres d'étalonnage comme étalonnage « courant », cliquez sur **Save Calibration (Enregistrer l'étalonnage)**. Lorsque vous cliquez sur Save Calibration (Enregistrer l'étalonnage), le précédent étalonnage « courant » devient le nouvel étalonnage « précédent ».

  Le TSQ affiche la boîte de dialogue Save As (Enregistrer sous).

10. Enregistrez le fichier de méthode de réglage :
    a. Dans la zone File Name, entrez le nom du fichier de méthode de réglage, par exemple, **Réglage ESI ions négatifs polytyrosine.TSQTune**.
    b. Cliquez sur **Save** pour enregistrer le fichier de méthode de réglage.

Le spectromètre de masse est désormais réglé et étalonné en polarité ions négatifs.

Vous devez nettoyer le système avant d'optimiser le spectromètre de masse avec votre composé. Pour nettoyer le système, consultez la section suivante, Nettoyage du système après le réglage et l'étalonnage.

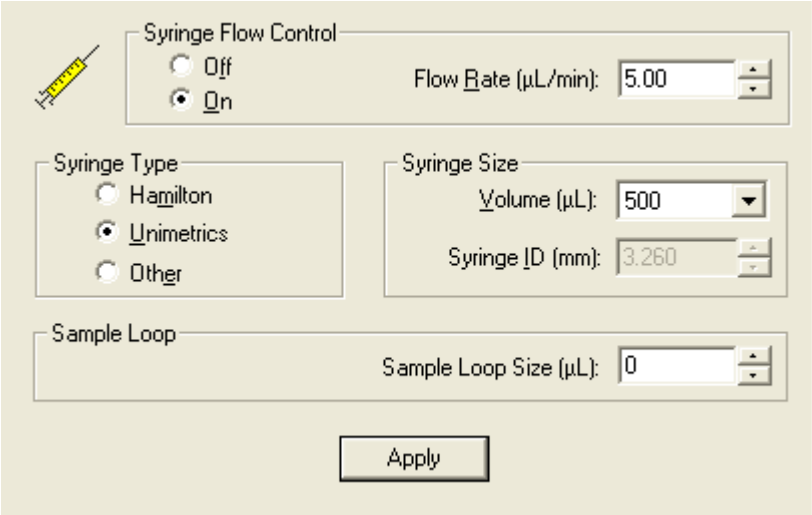
Nettoyage du système après le réglage et l'étalonnage

Cette section décrit le nettoyage du spectromètre de masse une fois la procédure de réglage et d'étalonnage effectuée. Pour des résultats optimaux, nettoyez le spectromètre de masse avant l'acquisition de données sur l'analyte utilisé.

❖ Pour nettoyer le spectromètre de masse

1. Arrêtez le flux de liquide de la pompe seringue :
   a. Dans EZ Tune, choisissez **Setup > Syringe Pump & Sample Loop** pour afficher la vue Syringe Pump and Sample Loop dans la partie supérieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 29.
   b. Dans la zone Syringe Flow Control, sélectionnez l'option **Off**, puis cliquez sur **Apply** pour arrêter la pompe seringue.

Figure 29. Pompe activée dans la vue Syringe Pump and Sample Loop



Marche

Veille

2. Si nécessaire, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse en mode veille.
3. Retirez la seringue du porte-seringue :
   a. Soulevez le manche de la seringue tout en appuyant sur le bouton noir du manche de la pompe seringue.
   b. Retirez la seringue.
   c. Retirez l'extrémité de l'aiguille du tube Teflon de l'adaptateur de seringue.
4. Nettoyez la seringue complètement avec une solution méthanol/eau 50/50.
5. Rincez la conduite de transfert de l'échantillon, le tube d'échantillon et la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II :

   Remarque Le solvant que vous utilisez pour rincer la seringue, la conduite de transfert de l'échantillon, le tube d'échantillon et la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II dépend du système de solvant que vous utilisez pour dissoudre vos échantillons. Par exemple, si vous utilisez une solution tamponnée de haute concentration, une solution acide convient.

   a. Remplissez la seringue d'une solution méthanol/eau 50/50 (ou d'un autre solvant adéquat).
   b. Insérez avec précaution l'aiguille de la seringue dans le tube Teflon de l'adaptateur de seringue.
   c. Nettoyez la ligne de transfert des échantillons, le tube d'échantillonnage et la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II avec cette solution en appuyant lentement sur le piston de la seringue.
   d. Retirez l'aiguille de la seringue située dans l'adaptateur de seringue.

Le nettoyage du système est désormais terminé. Pour optimiser le réglage à l'aide d'un composé, allez au Chapitre 4, « Optimisation du spectromètre de masse à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS ».

Optimisation du spectromètre de masse à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS

Ce chapitre décrit le réglage du spectromètre de masse en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS à l'aide d'un analyte utilisé comme composé de réglage. L'optimisation de la sensibilité du spectromètre de masse à l'aide de l'analyte s'effectue selon une procédure de réglage automatique.

Les méthodes de réglage générées par le réglage automatique s'avèrent utiles pour un large éventail d'applications. Vous pouvez souvent les utiliser sans autre réglage additionnel du spectromètre de masse. Toutefois, pour certaines applications, il vous faudra peut-être optimiser plusieurs réglages du spectromètre de masse. Par exemple, les réglages suivants ont une incidence sur les performances ESI ou H-ESI et la qualité du signal :

- Tension du spray
- Pression du gaz gaine
- Débit du gaz auxiliaire
- Température du capillaire (tube de transfert des ions)
- Tension de décalage de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra)
- Amplitude RF de la lentille S (TSQ Vantage)

En mode H-ESI, il est important de prendre en compte, outre les réglages précités, la température du vaporisateur.

Remarque Le TSQ peut effectuer une optimisation standard ou personnalisée. Pendant l'optimisation standard, le TSQ optimise l'énergie de collision, la tension de modulation de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra) ou l'amplitude rf de la lentille S (TSQ Vantage), et les tensions appliquées à l'optique ionique jusqu'à ce que la transmission des ions de votre analyte soit optimale. Pour une optimisation personnalisée, vous pouvez choisir lequel des réglages ci-dessus le TSQ optimise.

La configuration optimale de ces réglages dépend du débit du solvant et de la structure de l'analyte. En général, vous devez modifier les réglages du spectromètre de masse chaque fois que les conditions de débit du solvant de l'application changent.

Le capillaire (tube de transfert des ions) est chauffé pour maximiser la transmission des ions vers le spectromètre de masse. Vous réglez la température du capillaire de sorte qu'elle soit proportionnelle au débit de la solution. Se reporter aux directives du Tableau 2 (H-ESI) ou du Tableau 4 (ESI) à la page 7.

Remarque Vérifiez que le réglage et l'étalonnage du spectromètre de masse TSQ ont été réalisés dans les trois mois précédant l'optimisation des réglages pour le composé. Si vous devez régler et étalonner le système, suivez la procédure décrite dans le Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse ».

Pour optimiser le spectromètre de masse à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS, vous devez effectuer les opérations suivantes décrites dans ce chapitre :

1. Configurez la pompe seringue et la vanne de dérivation/d'injection pour l'injection automatique par boucle.
2. Configurez le spectromètre de masse pour un composé spécifique à partir de EZ Tune.
3. Exécutez la procédure d'optimisation automatique des réglages pour le composé choisi afin d'affiner les réglages du spectromètre de masse qui dépendent de ce composé.
4. Enregistrez la nouvelle méthode de réglage.

Contenu

- Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode ESI ou H-ESI
- Configuration de l'optimisation à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS
- Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS

Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode ESI ou H-ESI

Pour introduire le composé par boucle d'injection automatique, suivez les procédures ci-après. Les raccordements de tubes pour l'introduction des échantillons ESI/MS et H-ESI/MS de la pompe seringue dans le flux de solvant depuis une LC sont illustrés à la Figure 30 et à la Figure 31.

Figure 30. Raccordements ESI/MS pour l'introduction des échantillons par boucle d'injection automatique dans le flux de solvant à partir d'une LC

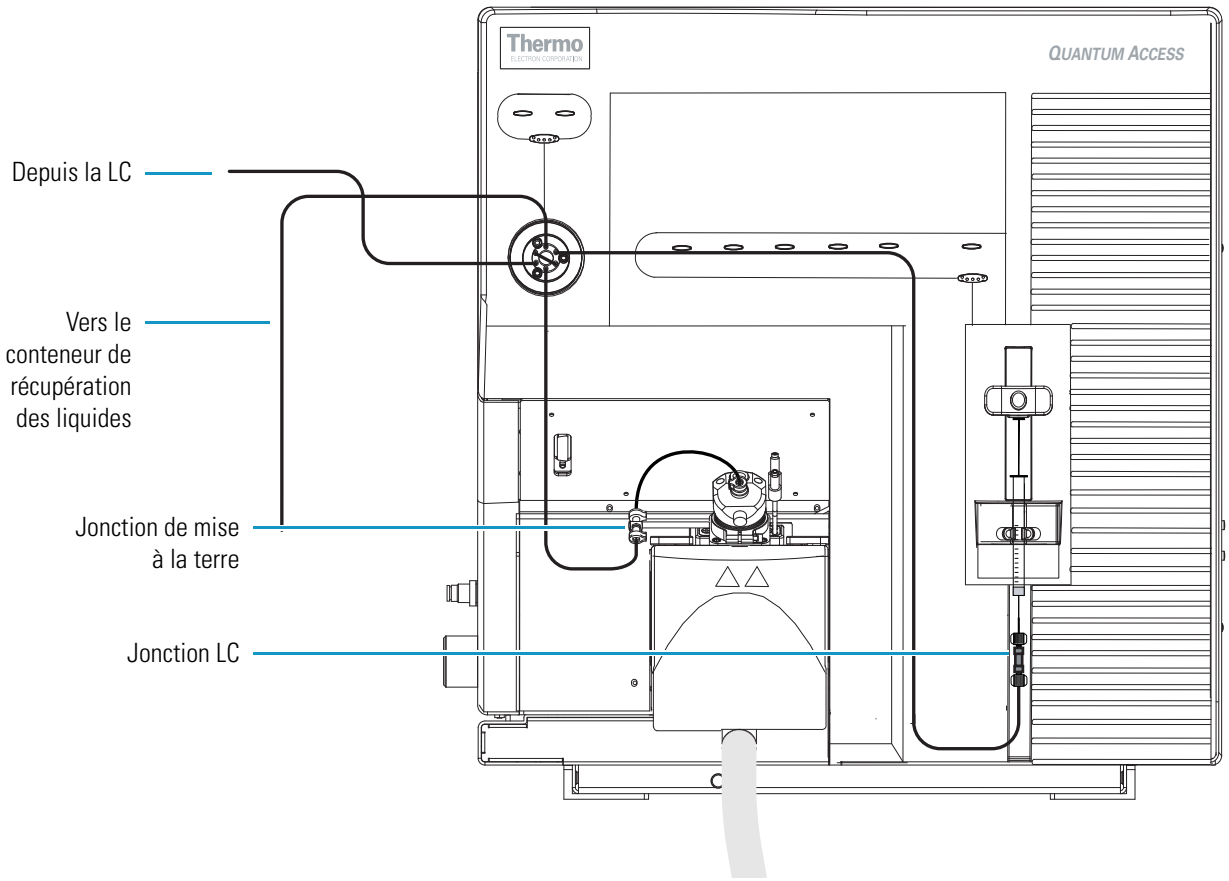
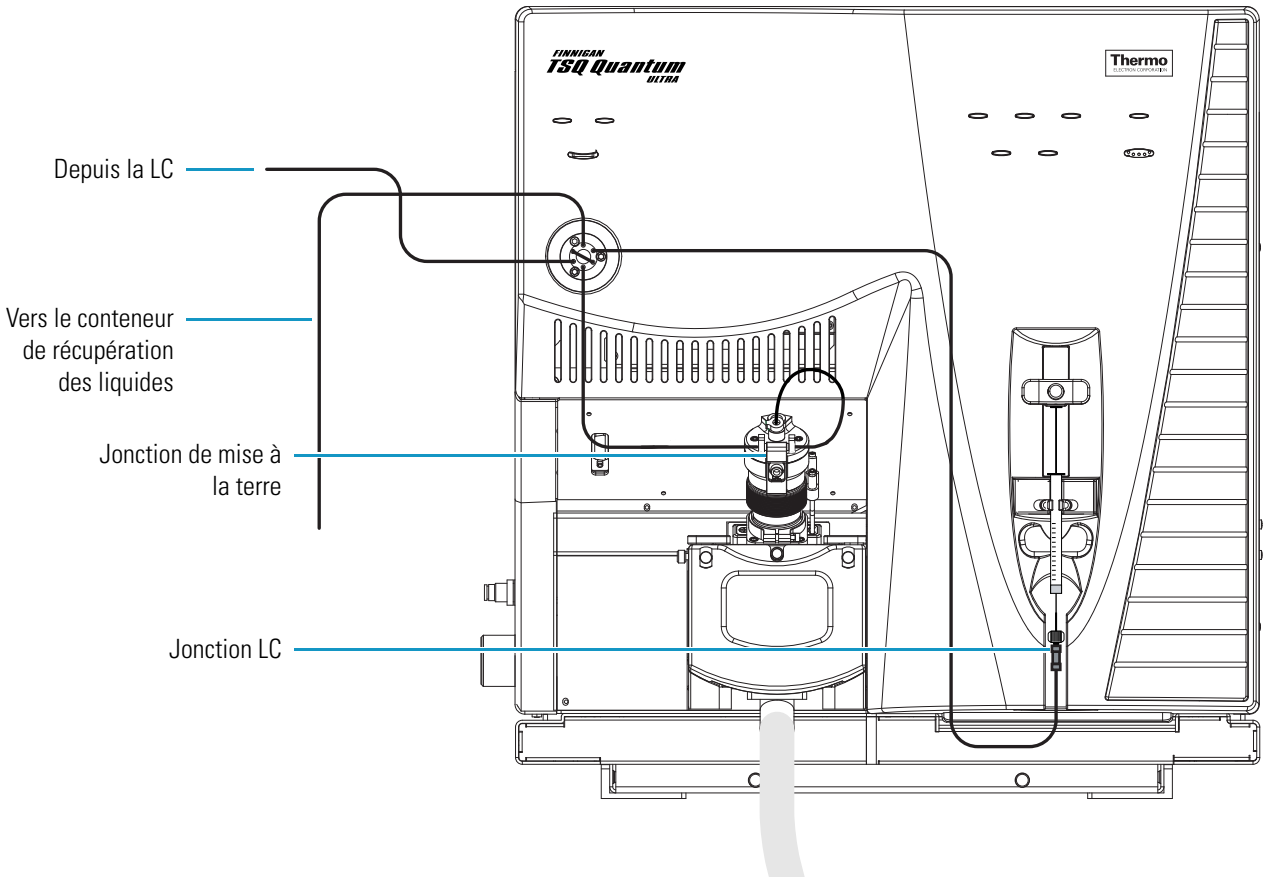


Figure 31. Raccordements H-ESI/MS pour l'introduction des échantillons par boucle d'injection automatique dans le flux de solvant à partir d'une LC



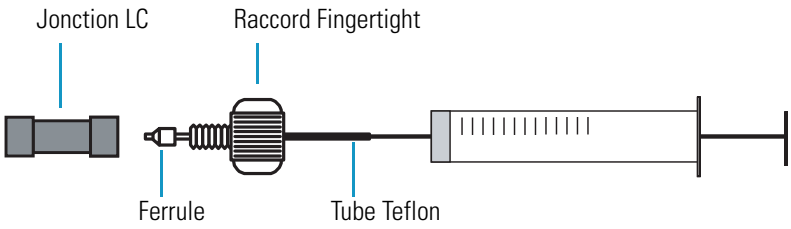
Remarque Vous pouvez utiliser l'échantillon de réserpine décrit à la section « Préparation de solutions » à la page 109 ou le composé utilisé dans la présente section.

Les procédures suivantes supposent une connaissance de l'instrument TSQ et de Tune Master. Pour plus d'informations, se reporter à l'aide en ligne TSQ, et aux manuels *Guide de connexion de la gamme TSQ* et *Manuel du matériel de la gamme TSQ.*

❖ **Pour effectuer les raccordements en vue de l'introduction des échantillons de la pompe seringue dans le flux de solvant à partir d'une LC**

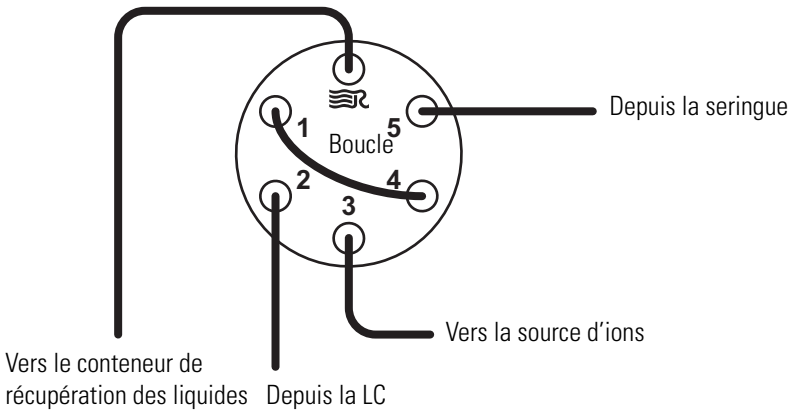
1. Retirez la seringue du porte-seringue :
   a. Soulevez le manche de la seringue tout en appuyant sur le bouton noir du manche de la pompe seringue.
   b. Retirez la seringue.
   c. Retirez l'extrémité de l'aiguille du tube Teflon de l'adaptateur de seringue. Voir la Figure 32.

Figure 32. Seringue et adaptateur de seringue



2. Retirez la ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et la jonction de mise à la terre de la source d'ions.
3. Installez une ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et la vanne de dérivation/d'injection :
   a. Branchez un tube de longueur adéquate à la jonction LC de l'adaptateur de seringue.
   b. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection. Voir la Figure 33.

Figure 33. Raccordement pour injection automatique par boucle dans la vanne de dérivation/d'injection



Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée, utilisez pour la solution de réglage et d'étalonnage une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et la solution d'optimisation.

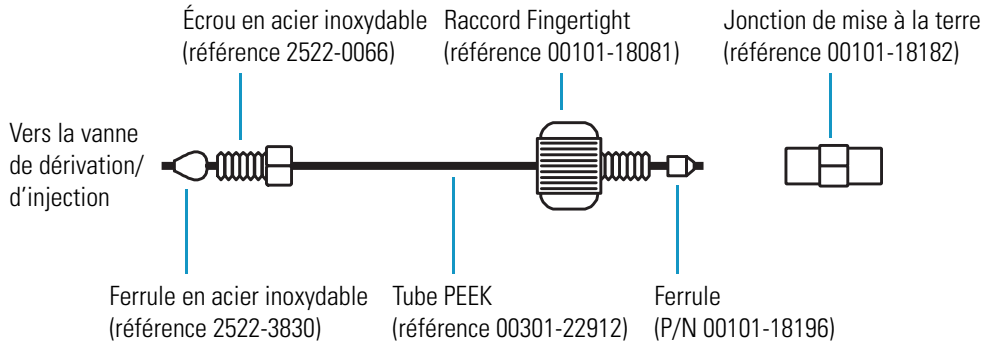
4. Chargez une seringue Unimetrics propre de 500 µl avec 420 µl de solution échantillon de réserpine à 2 pg/µl (TSQ Quantum Access et TSQ Quantum Access MAX), 200 fg/µl (TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Ultra AM, TSQ Quantum Ultra EMR) ou de 100 fg/µl (TSQ Vantage, TSQ Vantage AM et TSQ Vantage EMR) ou de votre analyte. (Pour la procédure de préparation de la solution de réserpine, voir la section « Solutions de réserpine » à la page 114.)

Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée de l'adaptateur, veillez à essuyer l'extrémité de l'aiguille avec un tissu propre et non pelucheux avant de la réinsérer dans l'adaptateur de seringue.

5. Tout en maintenant le piston de la seringue en place, insérez avec précaution l'extrémité de l'aiguille dans le tube Teflon de l'adaptateur de seringue (voir la Figure 32).
6. Placez la seringue dans le porte-seringue de la pompe seringue.
7. Appuyez sur le bouton noir du manche de la pompe seringue tout en appuyant sur le manche jusqu'à ce qu'il entre en contact avec le piston.
8. Installez une ligne de transfert des échantillons entre la vanne de dérivation/d'injection et la jonction de mise à la terre de la source d'ions :
   a. Rassemblez les raccords nécessaires à l'installation de la ligne de transfert des échantillons (voir la Figure 34).
   b. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 3 de la vanne de dérivation/d'injection (voir la Figure 33).

c. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un raccord Fingertight et d'une ferrule à la jonction de mise à la terre de la source d'ions (voir la Figure 30, Figure 31 et la Figure 34).

Figure 34. Ligne de transfert des échantillons entre la vanne de dérivation/d'injection et la jonction de mise à la terre



9. Installez une boucle d'échantillonnage de 5 µl avec des écrous et des ferrules entre les orifices 1 et 4 de la vanne de dérivation/d'injection.
10. Installez une ligne de solvant entre le système LC et la vanne de dérivation/d'injection :
    a. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un raccord et d'une ferrule à l'orifice d'évacuation du système LC.
    b. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 2 de la vanne de dérivation/d'injection.
11. Installez une ligne de récupération des liquides sur la vanne de dérivation/d'injection et dirigez l'orifice d'évacuation vers un conteneur de récupération des liquides :
    a. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 6 de la vanne de dérivation/d'injection (l'orifice 6 porte le logo Rheodyne™ ®).
    b. Insérez l'autre extrémité du tube dans le conteneur de récupération des liquides.

La configuration de l'introduction par boucle d'injection automatique est terminée. Allez à la section suivante, « Configuration de l'optimisation à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS ».

Configuration de l'optimisation à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS

❖ **Pour configurer le spectromètre de masse en vue d'optimiser les dispositifs dépendant du composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS**

1. Dans la barre des tâches Windows, sélectionnez **Démarrer > Tous les programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** pour ouvrir la fenêtre EZ Tune.
2. Dans EZ Tune, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse sous tension.

Marche

Veille

Polarité ions positifs

Polarité ions négatifs

3. Le cas échéant, passez de la polarité ions positifs à la polarité ions négatifs. Cliquez sur le bouton **Polarity** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour changer le mode de polarité des ions du spectromètre de masse.
   - Si vous souhaitez optimiser la méthode de réglage actuellement affichée, allez à l'étape 5.
   - Si vous souhaitez optimiser une autre méthode de réglage que celle affichée, ouvrez d'abord la méthode de réglage souhaitée comme indiqué à l'étape 4.
4. Ouvrez le fichier contenant les réglages de la réserpine ou ceux de l'analyte à utiliser :
   a. Cliquez sur le bouton **Open File** de la barre d'outils File/Display pour afficher la boîte de dialogue Open.
   b. Vérifiez que le dossier C:\Xcalibur\methods s'affiche. Sélectionnez un fichier de méthode de réglage.
   c. Cliquez sur **Open** pour ouvrir le fichier. Tune Master télécharge les réglages sur le spectromètre de masse.
5. Sélectionnez **Display > Compound Dependent Devices** pour afficher la boîte de dialogue Compound Dependent Devices.
6. Définissez les valeurs des dispositifs dépendant du composé :
   a. Vérifiez que la zone **Spray Voltage** est sélectionnée (en surbrillance) dans le tableau Device Display.
   b. Dans la vue Optimize Compound Dependent Devices, entrez **4 000** dans la zone Spray Voltage afin de régler la tension du spray sur 4 000 V.
   c. Définissez la pression du gaz gaine :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Sheath Gas Pressure** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone Sheath Gas Pressure, entrez **30** pour régler la pression du gaz gaine sur 30 unités.
   d. Définissez le débit du gaz auxiliaire :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Aux Valve Flow** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone Aux Valve Flow, entrez **10** pour régler le débit du gaz auxiliaire sur 10 unités.
   e. Définissez la température du capillaire (tube de transfert des ions) :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Capillary Temperature** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone Capillary Temperature, entrez **350** pour régler la température du capillaire sur 350 °C.

f. Définissez l'énergie de collision CID :
   i. Pour le TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et le TSQ Quantum Ultra, sélectionnez l'option **Skimmer Offset** dans le tableau Device Display pour la mettre en surbrillance.
   ii. Dans la zone Skimmer Offset, entrez **0** pour régler l'énergie de collision sur 0 V.
   iii. Pour le TSQ Vantage, sélectionnez l'option **Declustering Voltage** dans le tableau Device Display pour la mettre en surbrillance.
   iv. Dans la zone Declustering Voltage, entrez **0** pour régler l'énergie de collision sur 0 V.

g. Définissez la pression de collision :
   i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Collision Pressure** pour la mettre en surbrillance.
   ii. Dans la zone Collision Pressure, entrez **1,5** pour régler la pression de collision sur 1,5 mTorr.

h. Définissez l'énergie de collision :
   i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Collision Energy** pour la mettre en surbrillance.
   ii. Dans la zone Collision Energy, entrez **-38** pour régler l'énergie de collision sur -38 eV.

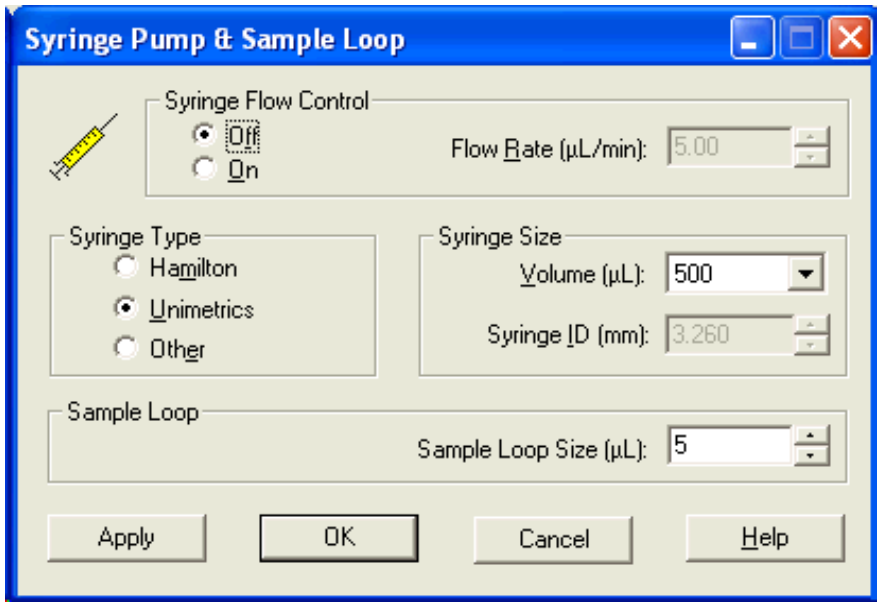
i. Pour appliquer les réglages, cliquez sur **Apply**.

Vérifiez que les valeurs actuelles du tableau Device Display correspondent approximativement aux valeurs définies. (Il vous faudra peut-être attendre quelques minutes que la température du capillaire se stabilise à la valeur définie.)

7. Configurez la pompe seringue de sorte qu'elle injecte automatiquement la solution de réserpine dans la boucle d'échantillonnage :
   a. Choisissez **Setup > Syringe Pump & Sample Loop** pour afficher la boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop. Voir la Figure 35.
   b. Sélectionnez l'option **Off** dans la zone Syringe Flow Control pour désactiver la pompe seringue.
      - Si vous utilisez une seringue Unimetrics ou Hamilton, allez à l'étape 7c.
      - Si vous *n'utilisez pas* de seringue Unimetrics ou Hamilton, allez à l'étape 7e.
   c. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option qui convient, **Unimetrics** ou **Hamilton**.
   d. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez **500** (ou le volume de la seringue) dans la liste Volume pour indiquer que le volume de la seringue est de 500 µl.

      Lorsque vous indiquez le type et le volume de la seringue, Tune Master définit automatiquement l'ID de seringue adéquate. Allez à l'étape 7f.

Figure 35. Configuration de l'injection automatique par boucle dans la boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop



e. Si vous n'utilisez pas de seringue Unimetrics ou Hamilton, vous devez indiquer manuellement le diamètre intérieur de la seringue comme suit :

   i. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option **Other**. Cette option indique que vous utilisez une seringue autre qu'une seringue Unimetrics ou Hamilton ; elle active la zone Syringe ID.

   ii. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez le volume correspondant à la seringue dans la liste Volume.

   iii. Dans la zone Syringe ID, entrez le diamètre intérieur de la seringue.

f. Dans la zone Sample Loop, entrez **5** dans la zone Sample Loop Size pour définir une capacité de boucle de 5 µl.

g. Pour appliquer ces réglages, cliquez sur **Apply**. La pompe seringue est désormais configurée de sorte à introduire dans la boucle d'échantillonnage la quantité d'échantillon appropriée.

8. Démarrez le flux de solvant :

   a. Choisissez **Setup > bouton Inlet Direct Control** pour afficher la boîte de dialogue Inlet Direct Control. Voir la Figure 36.

   Remarque La procédure suivante part du principe que les bouteilles étiquetées A et B contiennent respectivement de l'alcool isopropylique et de l'eau de qualité LCMS.

   b. Configurez la pompe MS Surveyor de sorte qu'elle fournisse une solution composée de 50 % d'alcool isopropylique et de 50 % d'eau à 400 µl/min :

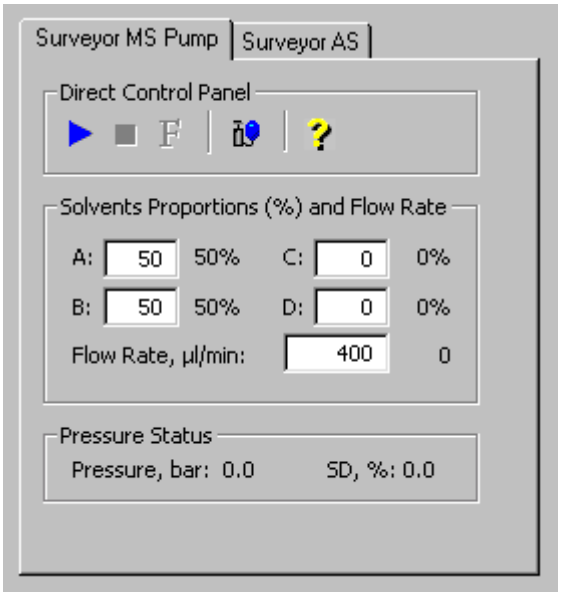
      i. Dans la zone Solvents Proportions (%) and Flow Rate de la vue Inlet Direct Control, tapez **50** dans la zone *A* pour indiquer une proportion de 50 % de solvant A.

      ii. Dans la zone *B,* tapez **50** pour indiquer une proportion de 50 % de solvant B.

      iii. Dans la zone Flow Rate, tapez **400** pour définir un débit de 400 µl/min.

   c. Pour démarrer la pompe Surveyor MS, la zone du panneau de commande directe, cliquez sur ▶ (Démarrer).

Figure 36. La pompe est désactivée dans la boîte de dialogue Inlet Direct Control.



Le système est désormais configuré de sorte à introduire automatiquement la réserpine dans la source d'ions pour optimiser le spectromètre de masse.

Vous allez ensuite optimiser les dispositifs dépendant du composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS. Allez à la section suivante, « Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS ».

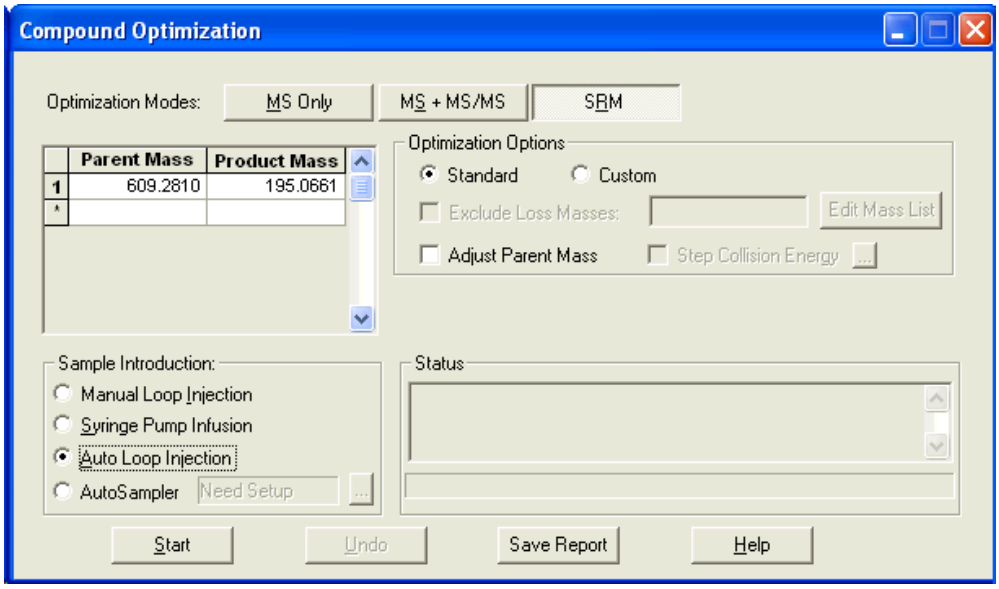
Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS

Pour maximiser la transmission d'ions du composé, optimisez le spectromètre de masse. L'optimisation affine les réglages dépendant du composé tels que la tension du spray, la température du capillaire et le décalage de la lentille tubulaire. Thermo Fisher Scientific vous recommande d'optimiser le spectromètre de masse uniquement après avoir correctement réglé et étalonné ce dernier.

❖ **Pour optimiser automatiquement le spectromètre de masse en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS pour une transition de réserpine de *m/z* 609,281 à *m/z* 195,066**

1. Dans la barre des tâches Windows, sélectionnez **Démarrer > Tous les programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** pour ouvrir la fenêtre EZ Tune.
2. Choisissez **Setup >, bouton Compound Optimization** pour afficher la boîte de dialogue Compound Optimization. Voir la Figure 37.

Figure 37. Boîte de dialogue Compound Optimization : illustration des réglages d'optimisation à l'aide de la réserpine



3. Définissez les réglages d'optimisation afin de surveiller la transition de la réserpine de *m/z* 609,281 à *m/z* 195,066 :
   a. Dans la zone Optimization Modes, sélectionnez **SRM**. Vous pouvez ainsi optimiser une réaction spécifique.
   b. Dans la zone Optimization Options, sélectionnez l'option **Standard** pour régler les dispositifs sélectionnés par défaut. (Dans cette configuration, l'énergie de collision et le décalage de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra) ou l'amplitude RF de la lentille S-lens (TSQ Vantage) sont les réglages par défaut optimisés.)
   c. Dans le tableau Optimization, tapez **609,281** dans la colonne Parent Mass pour définir la masse des ions parents de la réaction SRM à *m/z* 609,281.
   d. Dans la colonne Product Mass, tapez **195,066** pour définir la masse des ions produits de la réaction SRM sur *m/z* 195,066.

      Remarque Vous devez sélectionner le mode d'entrée utilisé pour introduire l'échantillon dans le spectromètre de masse. Cette procédure utilise l'option Auto Loop Injection.

   e. Dans la zone Sample Introduction, sélectionnez l'option **Auto Loop Injection** pour que le système TSQ injecte automatiquement la solution d'optimisation.
4. Cliquez sur **Start** pour lancer la procédure de réglage automatique.

Remarque Si la seringue vient à manquer d'échantillon pendant la procédure d'optimisation, l'instrument met le réglage automatique en pause et affiche le message suivant :

Syringe out of sample. Reload and click OK.

Si vous recevez ce message, rechargez la seringue et cliquez sur **OK** pour continuer l'optimisation.

Une fois l'optimisation terminée, le message Finish compound optimization s'affiche dans la zone Status. Voir la Figure 38.

- Si la procédure d'optimisation s'est réalisée sans erreur et que la courbe de dissociation du fragment *m/z* 609,281 est une courbe de Gauss (comme à la Figure 39) ou une courbe lisse à pente positive, allez à l'étape 6.
- Si des erreurs sont survenues pendant la procédure d'optimisation ou si la courbe de dissociation de l'ion *m/z* 609,281 oscille, présente plusieurs pics ou est excessivement bruiteuse, allez à l'étape 5.

Figure 38. Optimisation réussie comme l'indique la zone Status dans la vue Compound Optimization

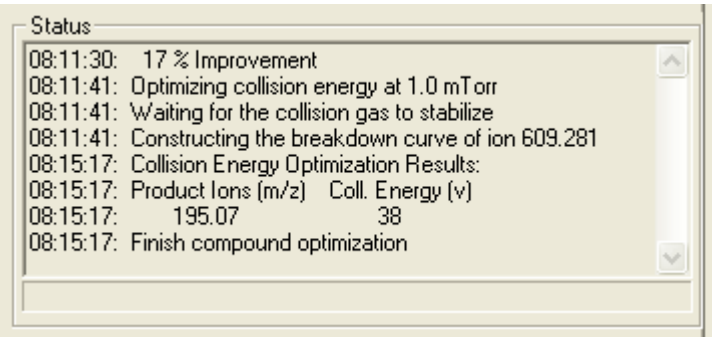
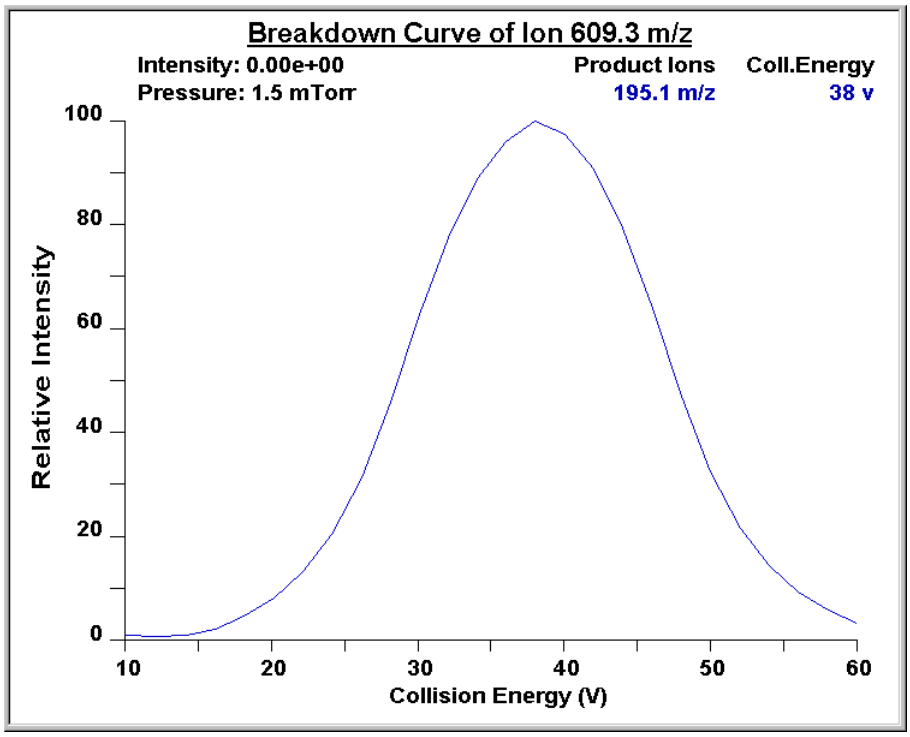

Status
08:11:30: 17 % Improvement
08:11:41: Optimizing collision energy at 1.0 mTorr
08:11:41: Waiting for the collision gas to stabilize
08:11:41: Constructing the breakdown curve of ion 609.281
08:15:17: Collision Energy Optimization Results:
08:15:17: Product Ions (m/z) Coll. Energy (v)
08:15:17: 195.07 38
08:15:17: Finish compound optimization

Figure 39. Courbe de dissociation de la réserpine indiquant l'intensité relative des ions produits à *m/z* 195,066 par rapport à l'énergie de collision



5. Si des erreurs sont survenues pendant la procédure d'optimisation, restaurez les réglages précédents des dispositifs dépendant du composé comme suit :
   a. Cliquez sur **Undo** pour restaurer les réglages précédents des dispositifs.
   b. Cliquez sur **Accept** pour recharger les réglages précédents des dispositifs sur le spectromètre de masse.
   c. Analysez et corrigez les problèmes à l'origine de l'échec de l'optimisation.
   d. Allez à l'étape 4 de cette procédure et relancez la procédure d'optimisation.

6. Cliquez sur **Accept** pour accepter les résultats de l'optimisation.

   Remarque Si les réglages de la source d'ions ont été modifiés, enregistrez la méthode de réglage pendant que le spectromètre de masse est sous tension ; dans le cas contraire, ces réglages seront perdus.

7. Enregistrez le fichier de méthode de réglage comme suit
   a. Cliquez sur **Save Tune As** dans la vue Compound Optimization pour ouvrir la boîte de dialogue Save As.
   b. Dans la zone File Name, entrez le nom du fichier de méthode de réglage (tel que **ESI_réserpine.TSQTune** ou le nom du composé utilisé).
   c. Cliquez sur **Save** pour enregistrer le fichier de méthode de réglage.

Le spectromètre de masse est désormais optimisé en mode ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS pour la réserpine (ou le composé utilisé).

Passez au Chapitre 5, « Acquisition de données ESI/SRM ou H-ESI/SRM ».

Acquisition de données ESI/SRM ou H-ESI/SRM

Pour acquérir des données à l'aide de Tune Master, vous devez d'abord effectuer les opérations suivantes :

- Une source ESI, H-ESI ou HESI-II installée
- Configurer un système d'introduction des échantillons
- Un instrument étalonné
- Créer une méthode de réglage pour l'analyte utilisé

Ce chapitre décrit l'acquisition de données à l'aide de Tune Master en mode ESI/SRM et H-ESI/SRM. L'expérience ci-après utilise la réserpine, mais vous pouvez suivre la même procédure quel que soit l'analyte.

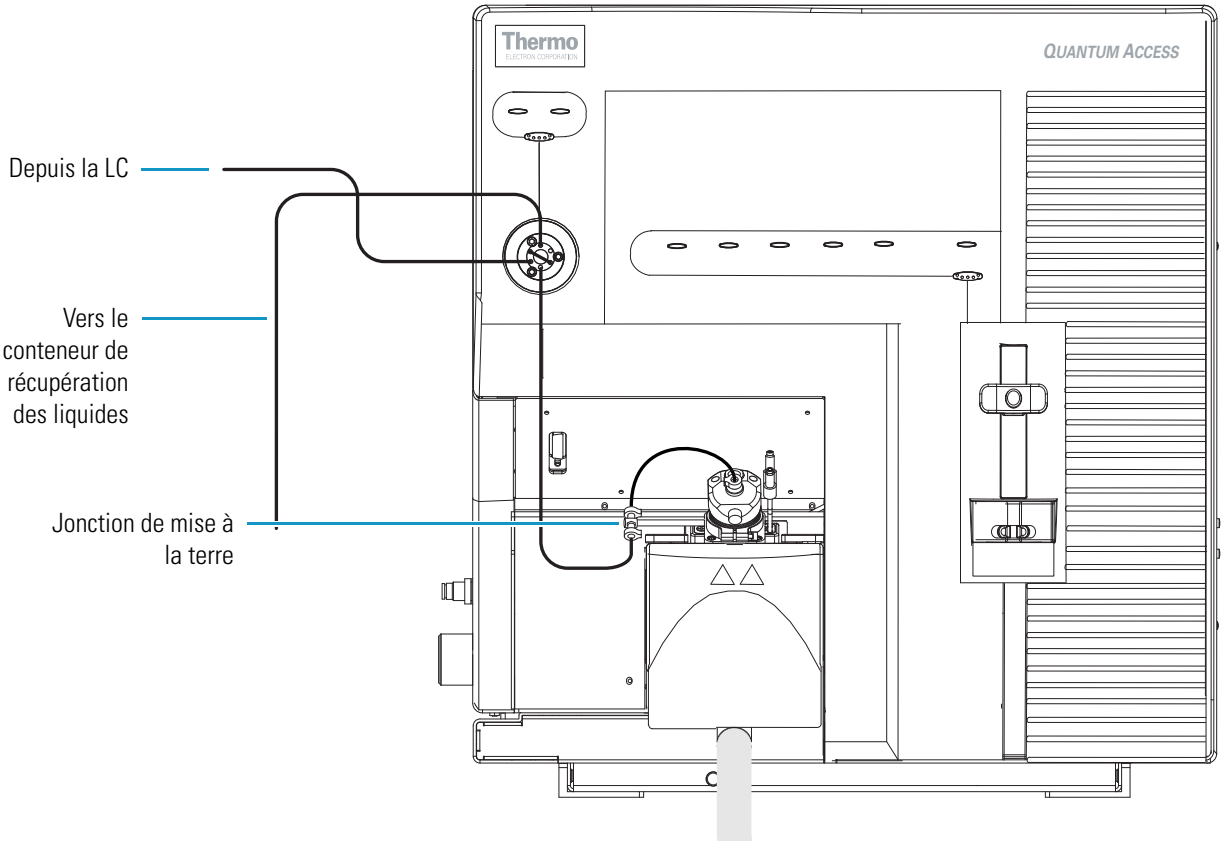
Contenu

- Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode ESI ou H-ESI
- Acquisition de données ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS en mode de balayage SRM

Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode ESI ou H-ESI

Procédez comme suit pour introduire l'échantillon par injection en boucle manuelle dans le débit de solvant depuis un LC. Les raccords physiques pour l'introduction d'échantillon ESI par injection en boucle manuelle sont indiqués dans la Figure 40. (Pour l'H-ESI, la jonction de mise à la terre est situé dans le support de jonction de mise à la terre sur la sonde H-ESI ou HESI-II.)

Figure 40. Raccordements ESI/MS pour l'introduction des échantillons par boucle d'injection manuelle dans le flux de solvant à partir d'une LC



❖ **Pour réaliser les raccordements de tubes en vue d'une injection par boucle manuelle**

1. Si ce n'est pas déjà fait, ouvrez Tune Master :
   a. Cliquez sur **Démarrer** avec le bouton droit de la souris et choisissez **Explorer**.
   b. Naviguez jusqu'au dossier C:\Thermo\ Instruments\TSQ\System\Programs.
   c. Cliquez deux fois sur **TSQTune**.
2. Arrêtez le flux de solvant vers la source ESI, H-ESI ou HESI-II :

   a. Dans Tune Master, cliquez sur le bouton **AS/LC Direct Control** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour afficher la vue Inlet Direct Control dans la partie supérieure droite de l'espace de travail.
   b. Dans la zone du panneau de commande directe, cliquez sur (Arrêter) pour arrêter le débit de solvant.

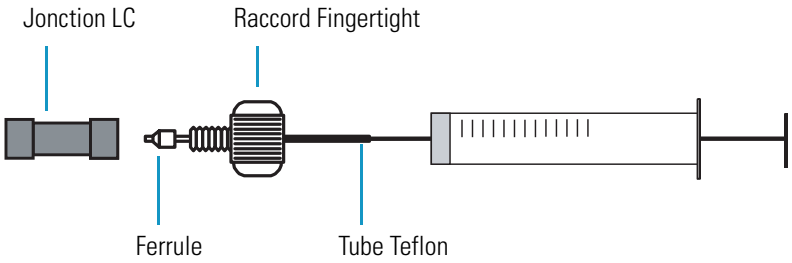
Marche

3. Cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse en mode veille.

Veille

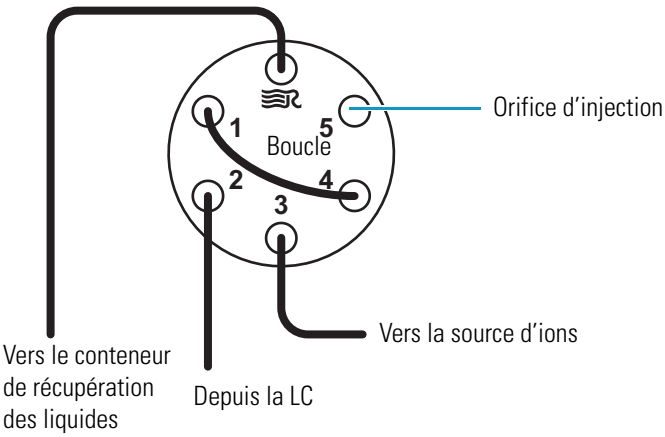
4. Retirez la seringue du porte-seringue :
   a. Soulevez le manche de la seringue tout en appuyant sur le bouton noir du manche de la pompe seringue.
   b. Retirez la seringue.
   c. Retirez l'extrémité de l'aiguille du tube Teflon de l'adaptateur de seringue. Voir la Figure 41.

Figure 41. Seringue et adaptateur de seringue



5. Retirez la ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection. L'orifice 5 constitue désormais l'orifice d'injection. Voir la Figure 42.

Figure 42. Raccordement pour injection par boucle manuelle dans la vanne de dérivation/d'injection

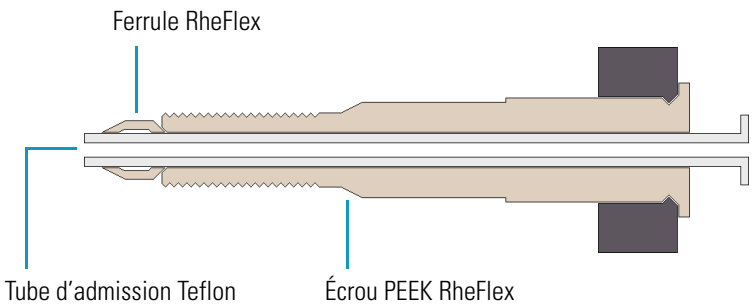


6. Insérez le raccord d'aiguille (référence 00110-22030) dans la vanne de dérivation/d'injection :
   a. Insérez le tube d'admission, la ferrule RheFlex™ et la partie filetée de l'écrou RheFlex (voir la Figure 43) dans l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection.
   b. Serrez manuellement l'écrou avec précaution.

Le spectromètre de masse est désormais configuré pour l'injection par boucle manuelle.

Passez à la section « Acquisition de données ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS en mode de balayage SRM ».

Figure 43. Raccord d'aiguille



Acquisition de données ESI/MS/MS ou H-ESI/MS/MS en mode de balayage SRM

❖ Pour acquérir un fichier de données de réserpine en mode de balayage SRM

Remarque Tune Master enregistre automatiquement les données acquises sur le disque dur.

1. Si ce n'est pas déjà fait, ouvrez Tune Master :
   a. Cliquez sur **Démarrer** avec le bouton droit de la souris et choisissez **Explorer**.
   b. Naviguez jusqu'au dossier C:\Thermo Instruments\TSQ\System\Programs.
   c. Cliquez deux fois sur **TSQTune**.

Marche
Veille

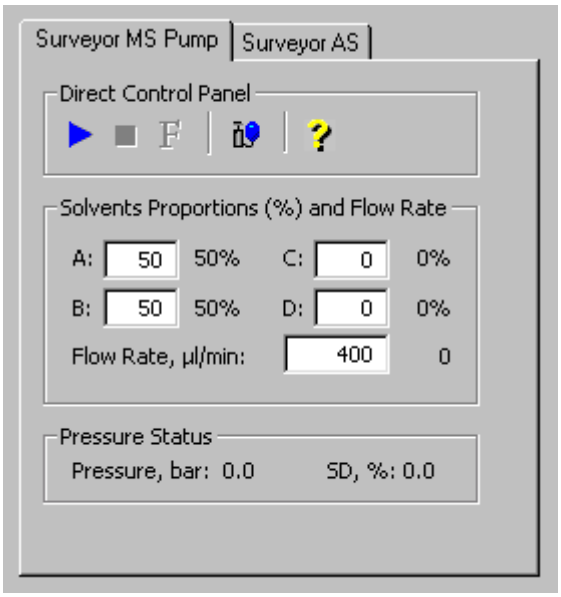
2. Dans Tune Master, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse sous tension.
   - Si vous souhaitez acquérir les données avec la méthode de réglage actuellement affichée, allez à l'étape 4.
   - Si vous souhaitez acquérir les données avec une autre méthode que celle affichée, ouvrez d'abord la méthode de réglage souhaitée comme indiqué à l'étape 3.
3. Ouvrez le fichier contenant les réglages de la réserpine ou ceux de l'analyte à utiliser :
   a. Cliquez sur le bouton **Open File** de la barre d'outils File/Display pour afficher la boîte de dialogue Open.
   b. Vérifiez que le dossier *C:\Xcalibur\methods* s'affiche. Sélectionnez le fichier **ESI_reserpine.TSQTune** (ou celui correspondant à la méthode de réglage voulue).
   c. Cliquez sur **Open** pour ouvrir le fichier. Tune Master télécharge les réglages sur le spectromètre de masse.
4. Démarrez le flux de solvant :

   a. Cliquez sur le bouton **AS/LC Direct Control** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour afficher la vue Inlet Direct Control dans la partie supérieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 44.

   Remarque La procédure suivante part du principe que les bouteilles étiquetées A et B contiennent respectivement de l'alcool isopropylique et de l'eau de qualité LCMS.

   b. Configurez la pompe MS Surveyor de sorte qu'elle délivre une solution composée de 50 % d'alcool isopropylique et de 50 % d'eau à 400 µl/min :
      i. Dans la zone Solvents Proportions (%) and Flow Rate de la vue Inlet Direct Control, tapez **50** dans la zone *A* pour indiquer une proportion de 50 % de solvant A.
      ii. Dans la zone *B,* tapez **50** pour indiquer une proportion de 50 % de solvant B.
      iii. Dans la zone Flow Rate, tapez **400** pour définir un débit de 400 µl/min.

Figure 44. Inlet Direct Control, vue de la pompe désactivée



c. Dans la zone du panneau de commande directe, cliquez sur ▶ (Démarrer) pour démarrer la pompe Surveyor MS .

5. Cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour ouvrir l'espace de travail Instrument Method Development Workspace. Voir la Figure 45.

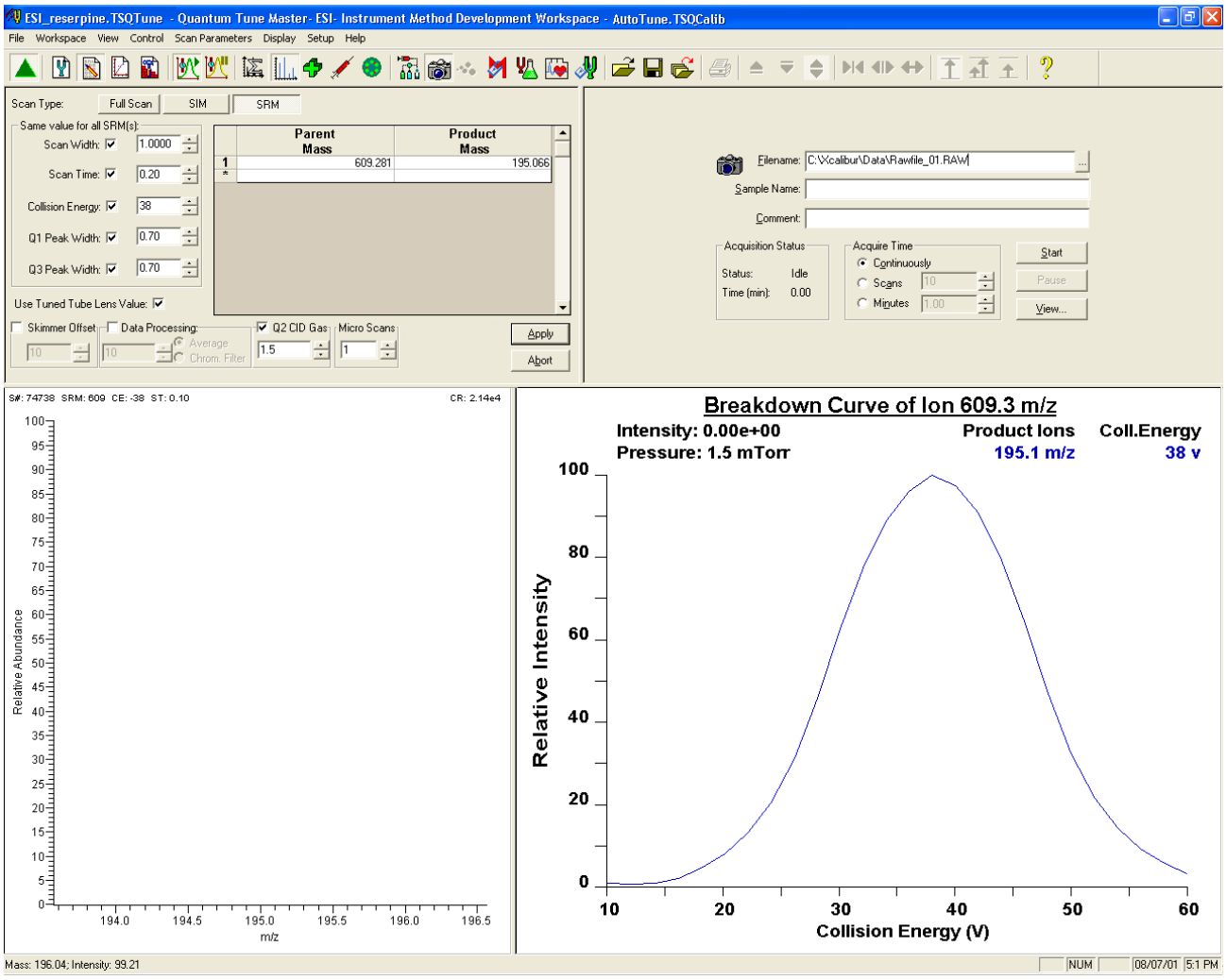
Remarque Si vous avez réalisé une optimisation à l'aide de réserpine comme indiqué au Chapitre 4, les réglages suivants sont sélectionnés par défaut lorsque vous basculez vers l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.

6. Définissez tous les réglages de balayage requis pour l'acquisition de données SRM :

   a. Dans la zone Scan Type de la vue Define Scan située dans la partie supérieure gauche de l'espace de travail, sélectionnez **SRM** comme type de balayage.

   b. Dans le tableau SRM correspondant, vérifiez qu'il n'existe qu'une seule réaction. Entrez la masse de l'ion parent (**609,281**) et la masse des ions produits (**195,066**) de la réserpine.
   -Ou-
   Entrez les masses des ions parents et des ions produits correspondant à l'analyte utilisé.

Figure 45. Espace de travail Instrument Method Development Workspace



Remarque Dans la vue Define Scan, utilisez la zone Same value for all SRM(s) pour sélectionner les réglages généraux de balayage SRM. Un réglage défini comme réglage général aura la même valeur à chaque réaction surveillée. Pour définir un réglage général, cochez la case correspondante et définissez sa valeur dans la zone adjacente

c. Dans la zone Same value for all SRM(s), assurez-vous que tous les réglages généraux sont sélectionnés. Puis, vérifiez que les valeurs suivantes figurent dans les zones appropriées (ou tapez-les) :

   i. Dans la zone Scan Width, entrez **1,000** pour définir la largeur de balayage sur 1,000 u.

   ii. Dans la zone Scan Time, entrez **0,20** pour fixer la vitesse de balayage à 0,20 s.

   iii. Vérifiez que la valeur de la zone Collision Energy est d'environ 38, c'est-à-dire la valeur entrée avant l'optimisation. (L'optimisation automatique risque d'avoir modifié la valeur de l'énergie de collision.)

   iv. Dans la zone Q1 Peak Width, entrez **0,70** pour définir la largeur de pic sur 0,70 u.

   v. Dans la zone Q3 Peak Width, entrez **0,70** pour définir la largeur de pic sur 0,70 u.

d. Cochez la case **Use Tuned Tube Lens Value**.

e. Vérifiez que la case **Skimmer Offset** est désélectionnée.

f. Indiquez l'utilisation d'un filtre de chromatographie de 3 s pour l'acquisition des données :

   i. Cochez la case **Data Processing** pour activer la zone Data Processing et ses options.

   ii. Sélectionnez l'option **Chrom. Filter** pour indiquer l'utilisation d'un filtre de chromatographie.

   iii. Dans la zone **Data Processing**, entrez la valeur **3** pour indiquer l'utilisation d'un filtre de chromatographie de 3 s.

g. Définissez les réglages de gaz de collision :

   i. Cochez la case **Q2 CID** Gas pour indiquer l'utilisation d'un gaz de collision.

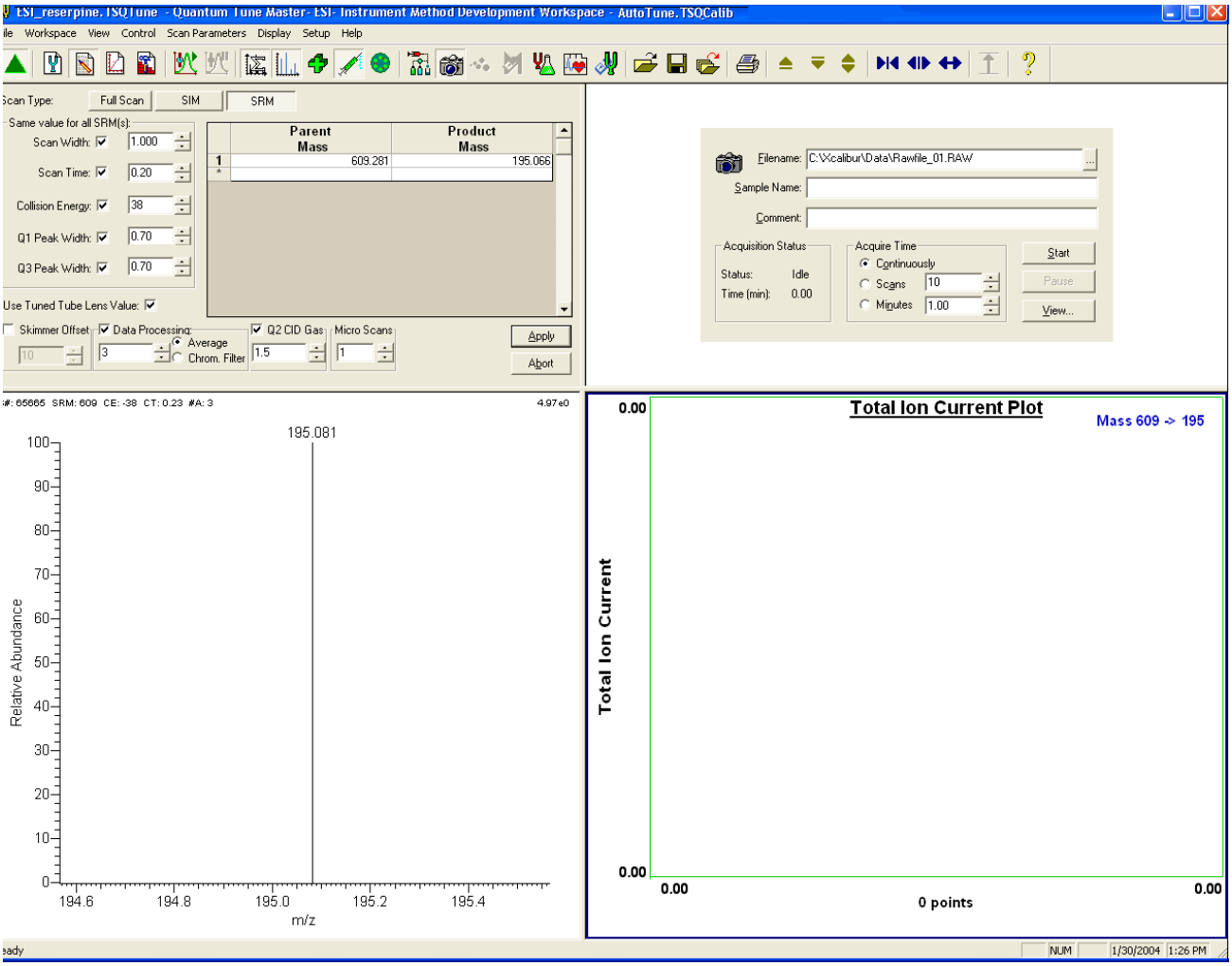
   ii. Dans la zone Q2 CID Gas, entrez **1,5** pour définir le gaz de collision sur 1,5 mTorr.

h. Vérifiez que la zone Micro Scans est définie sur **1**.

7. Cliquez sur **Apply** pour appliquer les réglages de balayage au spectromètre de masse.

8. Cliquez sur le bouton **Display TIC** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour lancer l'enregistrement du courant ionique total dans la vue graphique située dans la partie inférieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 46.

Figure 46. Type de balayage SRM dans l'espace de travail Instrument Method Development Workspace



9. Indiquez les réglages d'acquisition :
   a. Dans la vue Acquire Data située dans la partie supérieure droite de l'espace de travail, entrez le nom et le chemin de fichier **C:\Xcalibur\Data\reserpine_01.raw** dans la zone Filename. (Si vous le souhaitez, cliquez sur le bouton Parcourir ... pour sélectionner un autre dossier.)
   b. Dans la zone Sample Name, entrez **reserpine** comme ID d'échantillon. Si vous n'utilisez pas de réserpine, tapez le nom de l'analyte utilisé.
   c. Dans la zone Comment, tapez un commentaire sur l'expérience. Par exemple, tapez **SRM, ESI, 10 pg, boucle** pour indiquer le mode de balayage, le mode d'ionisation, la quantité d'échantillons et la méthode d'introduction des échantillons. Xcalibur inclut le commentaire sur les copies imprimées des données.
   d. Dans la zone Acquire Time, sélectionnez l'option **Continuously** pour indiquer que l'acquisition des données est continue jusqu'à son arrêt.

Charge/ Détecteur
Injection/ Récupération des liquides

10. Vérifiez que l'état du bouton **Divert/Inject Valve** de la barre d'outils Control/Scan Mode est Load (Charge). Si l'état du bouton **Divert/Inject Valve** est Inject (Injection) (comme illustré ci-contre), cliquez dessus pour le définir sur l'état Load (Charge).
11. Dans la vue Acquire Data, cliquez sur **Start** pour lancer l'acquisition des données dans le fichier *reserpine_01.raw*. Tune Master ajoute la date et l'heure numériques au nom du fichier si ce dernier existe déjà dans le dossier spécifié. Par exemple :

    C:\Xcalibur\Data\reserpine_010502092159.raw

    Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée, utilisez pour la solution de réglage et d'étalonnage une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et la solution d'optimisation.

12. Remplissez la boucle d'échantillonnage avec la solution de réserpine ou d'analyte :
    a. Vérifiez que la seringue est chargée de 420 µl de solution de réserpine à 2 pg/µl (TSQ Quantum Access ou TSQ Quantum Access MAX), 200 fg/µl (TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Ultra AM ou TSQ Quantum Ultra EMR) ou de 100 fg/µl (TSQ Vantage, TSQ Vantage AM, ou TSQ Vantage EMR). Pour la procédure de préparation de la solution de réserpine, voir l'Annexe C, Préparation de solutions.

       Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée de l'adaptateur, veillez à essuyer l'extrémité de l'aiguille avec un tissu propre et non pelucheux avant de la réinsérer dans l'adaptateur de seringue.

    b. Insérez avec précaution l'extrémité de l'aiguille dans le tube d'admission Teflon.
    c. Remplissez la boucle d'échantillonnage avec la solution de réserpine de la seringue.
13. Pour injecter la solution de réserpine dans le flux de solvant LC, appuyez sur le bouton bleu Divert/Inject Valve sur le panneau avant du spectromètre de masse TSQ .
14. Dans la vue du spectre, observez le pic des ions produits de la réserpine à *m/z* 195,066 (ou celui de l'analyte utilisé).
15. Recommencez la séquence suivante plusieurs fois pour obtenir des injections par boucle consécutives de réserpine en mode de balayage SRM. Patientez environ 1 minute entre chaque injection.
    a. Appuyez sur le bouton bleu de la vanne de dérivation/injection sur le spectromètre de masse TSQ pour la replacer en position de charge. Remplissez la boucle d'échantillonnage avec la

solution de réserpine à 2 pg/µl (TSQ Quantum Access ou TSQ Quantum Access MAX), 200 fg/µl (TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Ultra AM ou TSQ Quantum Ultra EMR) ou de 100 fg/µl (TSQ Vantage, TSQ Vantage AM, ou TSQ Vantage EMR).

b. Appuyez de nouveau sur le bouton Divert/Inject Valve pour injecter la solution de réserpine dans le flux de solvant LC. Puis observez la vue du spectre.

c. Patientez 1 minute environ avant de procéder à l'injection suivante.

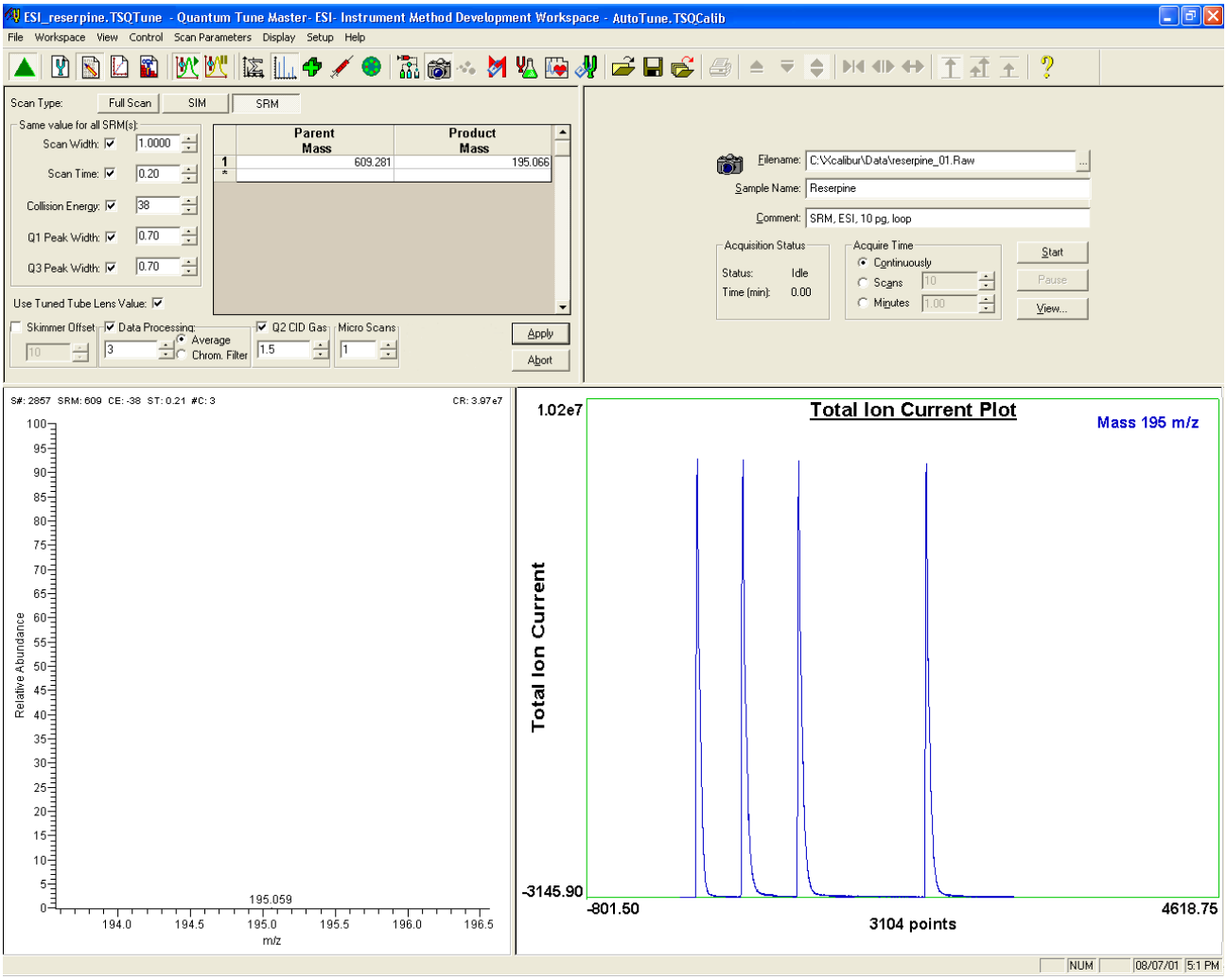
d. Recommencez les étapes 15a à 15c plusieurs fois.

Remarque Vous pouvez optimiser le réglage en le variant et en répétant l'étape 14.

16. Pour terminer l'acquisition des données, cliquez sur **Stop** dans la boîte de dialogue Acquire Data. Voir la Figure 47.

Un fichier.raw des données réserpine en mode de balayage SRM est désormais stocké sur le disque dur.

Figure 47. Acquisition de balayage SRM dans l'espace de travail Instrument Method Development Workspace

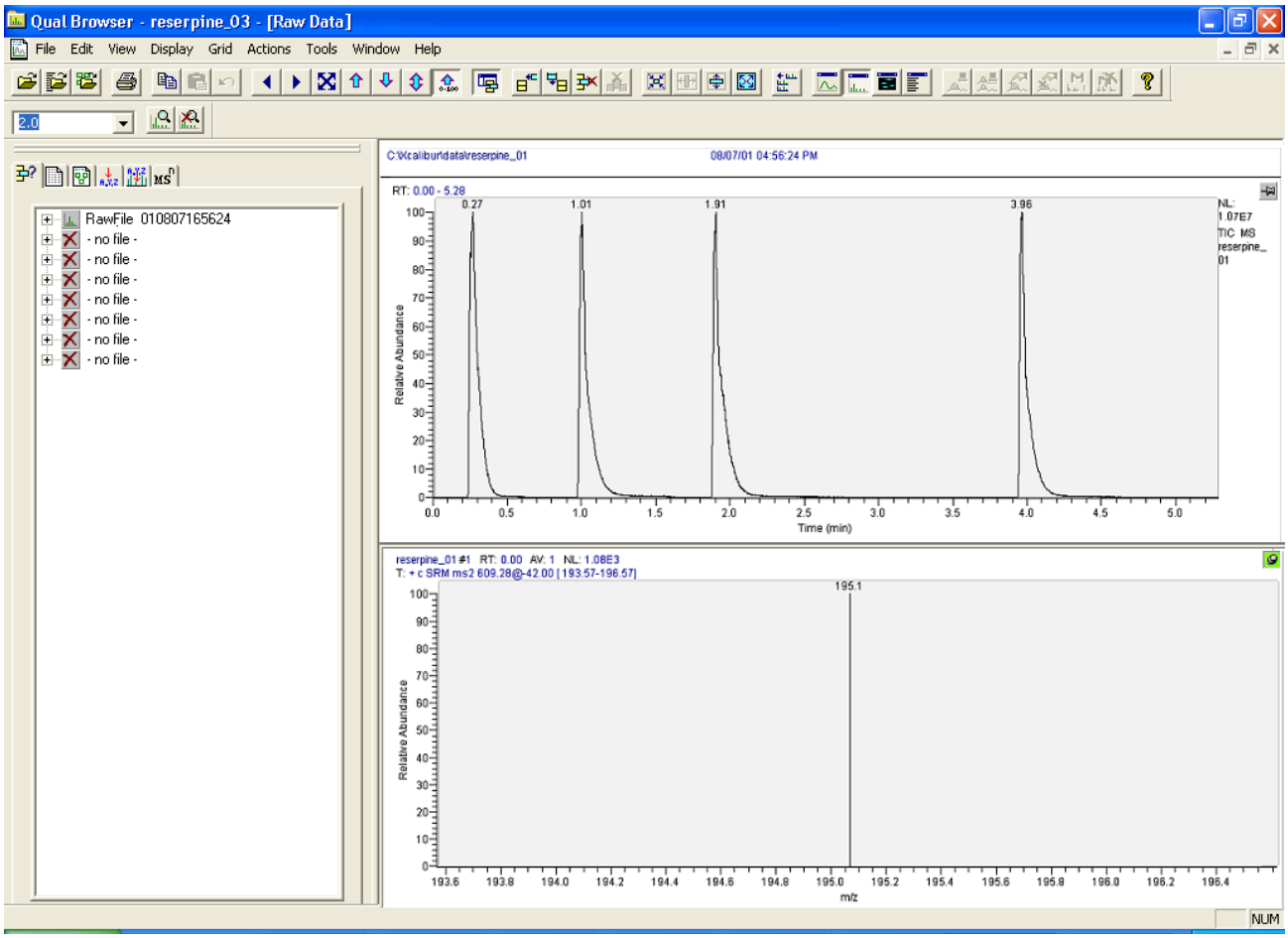


Remarque Pour plus d'informations sur l'analyse des données acquises à l'aide du système TSQ et de Xcalibur, se reporter au guide *Thermo Xcalibur Qualitative Analysis User Guide (Guide d'utilisation de l'analyse qualitative Thermo Xcalibur).*

17. Pour intégrer le chromatogramme dans le fichier brut que vous venez d'acquérir à l'aide de la fenêtre Xcalibur Qual Browser, cliquez sur **View**. Voir la Figure 48.

Si vous souhaitez acquérir des données à l'aide d'une source APCI, vous devez d'abord changer la source API comme indiqué au Chapitre 6, « Configuration de la source d'ions pour l'acquisition de données en mode APCI/MS/MS ».

Figure 48. Injections boucle de réserpine dans la vue Chromatogram (haut) et données en centroïde à *m/z* 195,066 dans la vue du spectre (bas) dans la fenêtre Qual Browser



Configuration de la source d'ions pour l'acquisition de données en mode APCI/MS/MS

Pour configurer la source d'ions en vue de l'acquisition de données en mode APCI/MS/MS, suivez les procédures ci-après.

Contenu

- Dépose de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II
- Dépose du boîtier de la source d'ions Ion Max ou Ion Max-S
- Retrait du cône de balayage ionique
- Installation de l'aiguille de décharge de Corona
- Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S
- Installation de la sonde APCI

Dépose de la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II

❖ **Pour déposer la sonde ESI, H-ESI ou HESI-II**

1. Au besoin, arrêtez le débit de solvant vers la source API comme suit :
   a. Si la fenêtre de réglage EZ Tune n'est pas déjà ouverte, choisissez **Démarrer > Programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** dans la barre de tâches Windows™ pour l'ouvrir.
   b. Choisissez **Setup > Inlet Direct Control** pour ouvrir la boîte de dialogue Inlet Direct Control.
   c. Affichez la page LC et cliquez sur (Arrêt) pour arrêter la pompe LC.

Marche
Arrêt
Veille

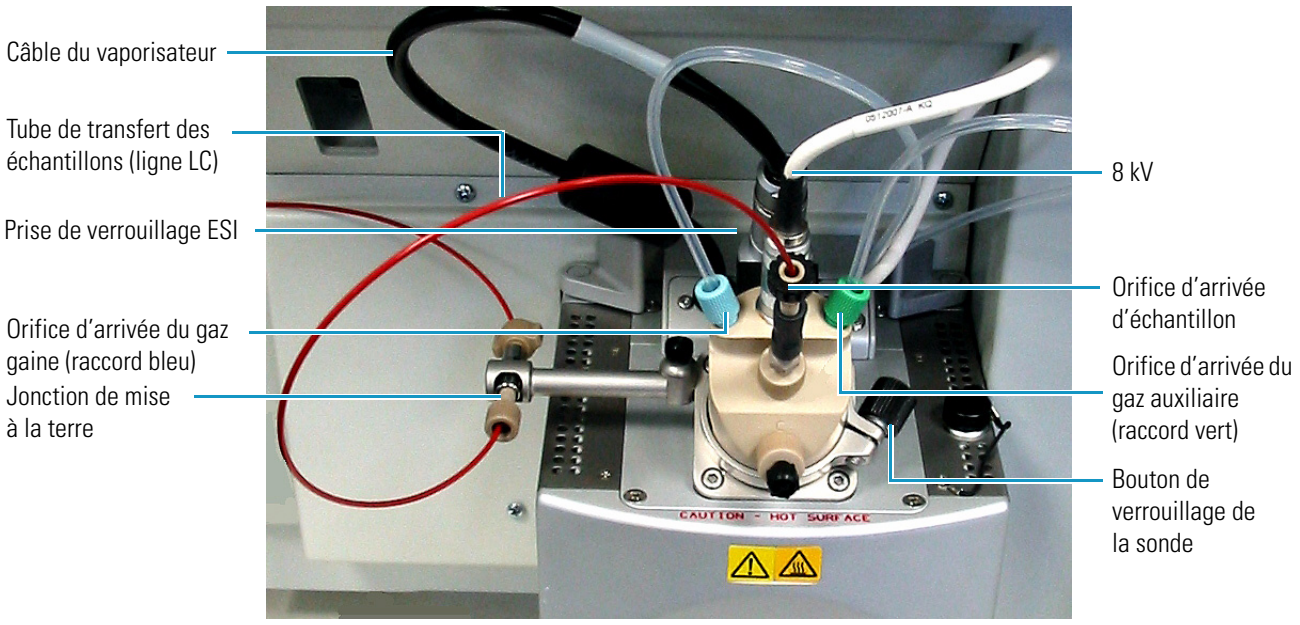
Vous pouvez déterminer l'état du spectromètre de masse en observant celui du bouton On/Standby (Marche/Veille) dans la barre d'outils Control/Scan Mode (Commande/Mode de balayage). (Les trois états du bouton On/Standby (Marche/Veille) sont indiqués sur la gauche.)

2. Si le spectromètre de masse est en marche, cliquez sur le bouton **On/Standby (Marche/Veille)** pour le placer en mode veille. Lorsque le spectromètre de masse est en mode veille, le TSQ arrête le gaz gaine de la source d'ions, le gaz auxiliaire et la haute tension.
3. Débranchez le tube de transfert des échantillons de la jonction de mise à la terre en acier inoxydable (raccord ZDV), comme illustré à la Figure 49.

4. Débranchez le câble de 8 kV de la prise haute tension de l'aiguille ESI (voir la Figure 49) :
   a. Déverrouillez le câble en tournant l'anneau de serrage dans le sens contraire des aiguilles d'une montre.
   b. Débranchez le câble de 8 kV de la prise haute tension de l'aiguille ESI.
5. Pour la sonde H-ESI, débranchez le câble de chauffage du vaporisateur à sa prise située sur la sonde H-ESI ou HESI-II.
6. Débranchez le raccord (vert) du gaz auxiliaire de l'orifice d'arrivée correspondant (A) qui se trouve sur le tube de la sonde (voir la Figure 49).
7. Débranchez le raccord (bleu) du gaz gaine de l'orifice d'arrivée correspondant (S) qui se trouve sur le tube de la sonde.
8. Si une sonde ESI est installée, retirez la jonction de mise à la terre en acier inoxydable (raccord ZDV) de la barre de mise à la terre du boîtier de la source d'ions.

MISE EN GARDE ÉVITEZ LES BRÛLURES. Aux températures de service, le vaporisateur HESI-II (ou H-ESI) peut provoquer des brûlures graves. Le vaporisateur HESI-II (ou H-ESI) fonctionne généralement à plus de 300 °C. **Laissez toujours le vaporisateur chauffant refroidir à température ambiante (pendant environ 20 min) avant de déposer ou de toucher la sonde H-ESI ou HESI-II**.

Figure 49. Boîtier de la source d'ions Ion Max avec sonde ESI


Câble du vaporisateur
Tube de transfert des échantillons (ligne LC)
Prise de verrouillage ESI
Orifice d'arrivée du gaz gaine (raccord bleu)
Jonction de mise à la terre
8 kV
Orifice d'arrivée d'échantillon
Orifice d'arrivée du gaz auxiliaire (raccord vert)
Bouton de verrouillage de la sonde
CAUTION - HOT SURFACE

9. Pour desserrer l'anneau de serrage de la sonde, tournez le bouton de verrouillage de la sonde dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.
10. Ramenez délicatement la sonde à l'arrière de l'orifice du boîtier de façon à la placer dans le logement qui se trouve au niveau du bloc de verrouillage ESI. La tige de guidage du tube de la sonde évite de tordre la sonde jusqu'à ce que la tige soit alignée sur le logement du bloc de verrouillage ESI.

    Une fois la sonde en place et alignée sur le logement, tournez-la de 45 degrés dans le sens inverse des aiguilles d'une montre pour la dégager de l'encoche. Veillez à ne pas endommager le tube d'échantillonnage en silice fondue ou le manchon de sécurité PEEK.

11. Tirez sur la sonde pour l'extraire du boîtier de la source d'ions.
12. Placez la sonde ESI dans son emballage d'origine.

Dépose du boîtier de la source d'ions Ion Max ou Ion Max-S

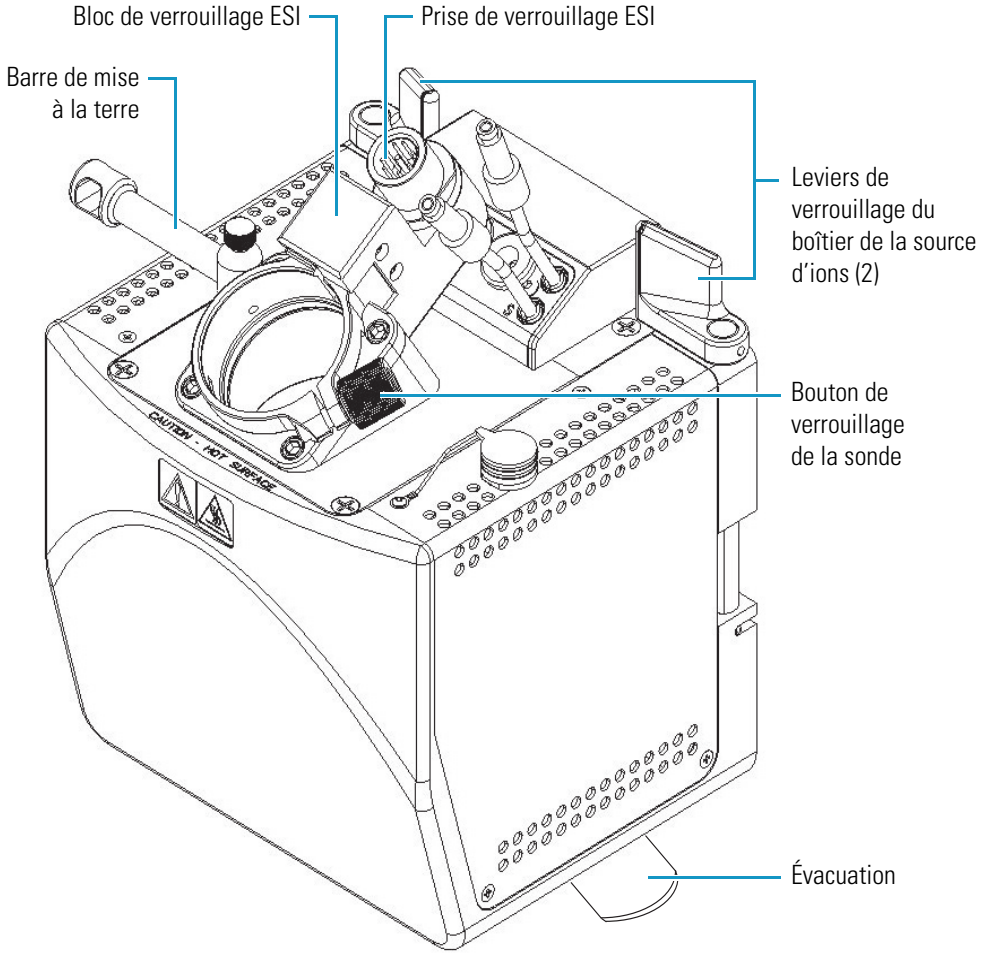
Pour accéder au cône de balayage ionique et installer l'aiguille de décharge de Corona, déposez tout d'abord le boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S.

Remarque Débranchez toutes les conduites de liquides externes raccordées au boîtier de la source d'ions avant d'enlever ce dernier.

❖ Pour retirer le boîtier de la source d'ions

1. Retirez le tuyau d'évacuation du boîtier de la source d'ions (voir la Figure 50).
2. Faites pivoter les leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions de 90 degrés pour dissocier le boîtier de la source de son ensemble de montage.
3. Retirez le boîtier de la source d'ions en le tirant hors de l'ensemble de montage.
4. Passez à la section « Retrait du cône de balayage ionique ».

Figure 50. Boîtier Ion Max-S, détail des composants (similaire au Ion Max)


Bloc de verrouillage ESI
Prise de verrouillage ESI
Barre de mise à la terre
Leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions (2)
Bouton de verrouillage de la sonde
Évacuation
CAUTION - HOT SURFACE

Retrait du cône de balayage ionique

Retirez le cône de balayage ionique car il n'est pas employé lors de l'utilisation de la sonde APCI.

❖ **Pour retirer le cône de balayage ionique**

1. Munissez-vous d'une paire de gants sans talc.

MISE EN GARDE VEILLEZ À NE PAS VOUS BRÛLER. Aux températures de fonctionnement, le tube de transfert des ions peut provoquer des brûlures graves. Ce composant fonctionne généralement à une température comprise entre 200 et 400 °C. **Laissez toujours refroidir le cône de balayage ionique à température ambiante (pendant environ 20 minutes) avant de retirer ou de toucher ce composant.** Veillez à ne jamais toucher l'extrémité du tube de transfert des ions lorsqu'elle est exposée.

2. Tenez les saillies extérieures du cône de balayage ionique et tirez ce dernier hors du joint du cône API.
3. Placez le cône de balayage ionique dans son emballage d'origine.

Passez à la section « Installation de l'aiguille de décharge de Corona ».

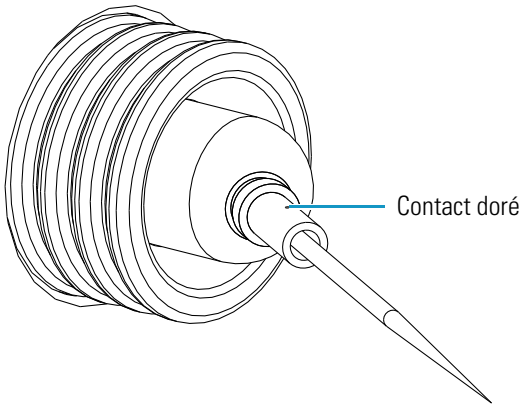
Installation de l'aiguille de décharge de Corona

❖ **Pour installer l'aiguille de décharge de Corona**

MISE EN GARDE VEILLEZ À NE PAS VOUS BLESSER. L'aiguille de décharge de Corona est particulièrement pointue. Manipulez-la avec précaution pour ne pas vous blesser.

1. Positionnez le boîtier de la source Ion Max pour y accéder depuis l'arrière.
2. À l'aide d'une pince, maintenez l'aiguille par le contact doré et poussez l'aiguille dans la prise. Voir la Figure 51.

Figure 51. Vue arrière de l'aiguille de décharge de Corona



3. Veillez à ce que l'extrémité de l'aiguille soit alignée sur la trajectoire entre la sonde APCI et l'interface avec la source d'ions sur l'instrument.

Passez à la section « Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S ».

Installation du boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S

❖ **Pour réinstaller le boîtier de la source Ion Max ou Ion Max-S**

1. Alignez avec soin les deux orifices de guidage situés à l'arrière du boîtier de la source d'ions sur les tiges de guidage du spectromètre de masse. Voir la Figure 52 et la Figure 53.

Figure 52. Vue arrière du boîtier de la source d'ions Ion Max

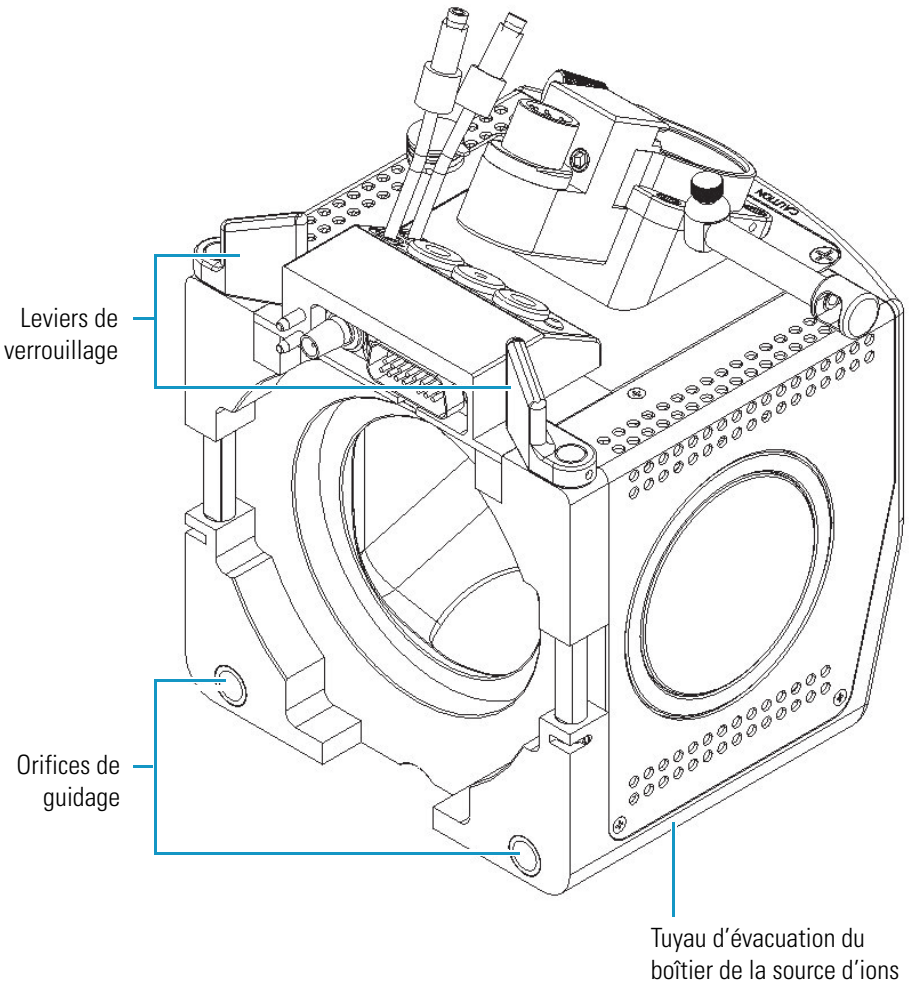
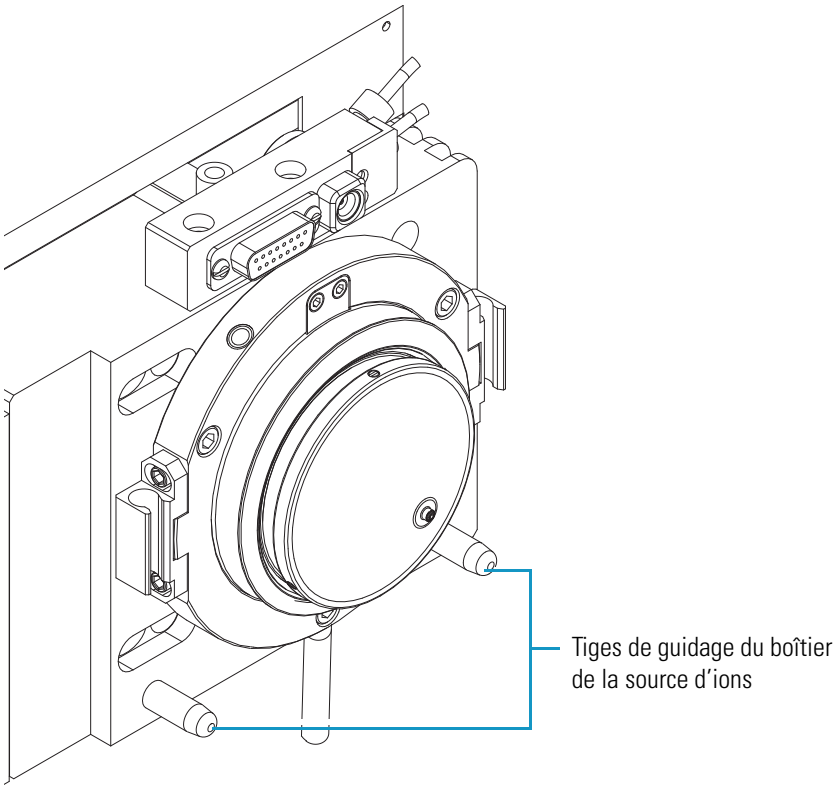


Figure 53. Ensemble de montage de la source d'ions avec les tiges de guidage



2. Faites pivoter les leviers de verrouillage du boîtier de la source d'ions de 90 degrés pour verrouiller le boîtier de la source sur son ensemble de montage.

MISE EN GARDE Veillez à ce que les solvants usés ne pénètrent pas dans la source d'ions ou le spectromètre de masse. Assurez-vous que le liquide présent dans le tuyau d'évacuation puisse toujours s'écouler dans un conteneur de récupération des liquides. Vérifiez que l'extrémité du tube d'évacuation se trouve au-dessus du niveau de liquide du conteneur de récupération des liquides.

Ne branchez pas le tuyau d'évacuation de la source API (ou tout autre tuyau d'évacuation raccordé au conteneur de récupération des liquides) sur le même système d'extraction de vapeurs que celui utilisé pour la pompe primaire. Il existe un risque de contamination du système optique de l'analyseur en cas de raccordement des tuyaux d'évacuation de la source API et de la pompe primaire (tuyau bleu) au même système d'extraction des vapeurs.

Il convient d'équiper le laboratoire d'au moins deux systèmes d'extraction/évacuation. Branchez le tuyau d'évacuation (bleu) de la pompe primaire à un système d'évacuation dédié. Raccordez le tuyau d'évacuation la source API à un conteneur de récupération des liquides. Assurez la ventilation de ce conteneur via un système d'évacuation dédié.

3. Rebranchez le raccord d'évacuation de la source d'ions :
   a. Branchez le tuyau Tygon de 2,54 cm de diamètre intérieur (référence 00301-22922) au tuyau d'évacuation du boîtier de la source.
   b. Fixez l'extrémité libre du tuyau à un conteneur de récupération des liquides. L'idéal est que le conteneur de récupération des liquides soit ventilé par un système d'extraction des vapeurs.

La source d'ions Ion Max est désormais installée correctement sur le spectromètre de masse.

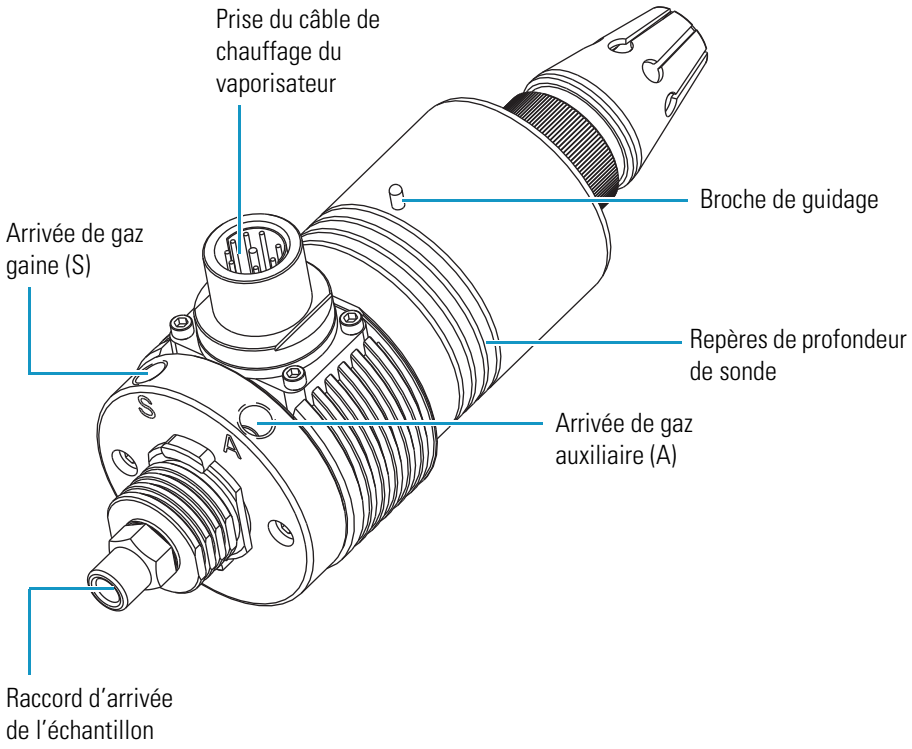
Passez à la section « Installation de la sonde APCI ».

Installation de la sonde APCI

❖ **Pour installer la sonde APCI**

1. Branchez le câble de 8 kV à la prise haute tension de l'aiguille de Corona :
   a. Branchez le câble de 8 kV à la prise haute tension de l'aiguille de Corona sur le côté droit du sommet du boîtier de la sourde d'ions. Voir la Figure 2 à la page 11.
   b. Verrouillez le câble en tournant l'anneau de serrage dans le sens des aiguilles d'une montre.
2. Tournez le bouton de verrouillage de la sonde dans le sens des aiguilles d'une montre pour régler l'anneau de serrage de la sonde sur sa position la plus ouverte.
3. Insérez la sonde APCI dans l'orifice du boîtier de la source d'ions, en alignant la tige de guidage sur le corps de la sonde à 45 degrés du bloc de verrouillage ESI. Voir la Figure 54.

   Figure 54. Sonde APCI


Prise du câble de chauffage du vaporisateur
Broche de guidage
Arrivée de gaz gaine (S)
Repères de profondeur de sonde
Arrivée de gaz auxiliaire (A)
Raccord d'arrivée de l'échantillon

4. Enfoncez la sonde dans l'orifice jusqu'à ce que la tige de guidage atteigne l'anneau de serrage du boîtier.
5. Tournez la sonde de 45 degrés dans le sens des aiguilles d'une montre et alignez la tige de guidage sur le logement du bloc de verrouillage ESI (il vous faudra peut-être tirer légèrement la sonde vers vous pour aligner correctement la tige sur l'encoche). Après avoir suffisamment tourné la sonde pour aligner la tige sur l'encoche qui se trouve à l'arrière de l'orifice, enfoncez la sonde jusqu'à ce que la tige de guidage atteigne le fond de l'encoche.
6. Insérez la sonde dans l'encoche jusqu'au maximum.
7. Verrouillez la sonde en tournant le bouton de verrouillage dans le sens des aiguilles d'une montre.
8. Débranchez le câble du vaporisateur de la prise de verrouillage ESI du boîtier de la source d'ions.

9. Branchez le câble du vaporisateur à la prise correspondante sur la sonde APCI.
10. Branchez la ligne de gaz auxiliaire (raccord vert) à l'orifice d'arrivée correspondant (***A***) sur la sonde APCI.
11. Branchez la ligne de gaz gaine (raccord bleu) à l'orifice d'arrivée correspondant (***S***) sur la sonde APCI.
12. Branchez le tube de transfert des échantillons à l'arrivée sur la sonde APCI.

La source APCI est à présent correctement installée sur le spectromètre de masse.

MISE EN GARDE Veillez à ce que les solvants usés ne pénètrent pas dans la source d'ions ou le spectromètre de masse. Assurez-vous que le liquide présent dans le tuyau d'évacuation puisse toujours s'écouler dans un conteneur de récupération des liquides. Vérifiez que l'extrémité du tube d'évacuation se trouve au-dessus du niveau de liquide du conteneur de récupération des liquides.

Remarque Avant d'analyser des échantillons avec la source APCI, vous devez passer un mode source APCI dans EZ Tune en choisissant **Setup (Configuration) > Change Ion Source (Changer la source d'ions) > APCI**.

Laissez le système LC/MS en veille et allez au Chapitre 7, « Optimisation du spectromètre de masse en mode APCI/MS/MS ».

Optimisation du spectromètre de masse en mode APCI/MS/MS

Ce chapitre décrit le réglage du spectromètre de masse en mode APCI/MS/MS. L'expérience ci-après utilise la réserpine, mais vous pouvez suivre la même procédure quel que soit l'analyte. L'optimisation de la sensibilité du spectromètre de masse à l'aide de l'analyte s'effectue selon une procédure de réglage automatique.

Les réglages suivants ont une incidence sur les performances APCI et la qualité du signal :

- Courant de décharge
- Température du vaporisateur APCI
- Pression du gaz gaine
- Débit du gaz auxiliaire
- Température du capillaire
- Amplitude RF de la lentille S (TSQ Vantage)
- Tension de décalage de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra)

Remarque Le TSQ peut effectuer une optimisation standard ou personnalisée. Pendant l'optimisation standard, le TSQ optimise l'énergie de collision, la tension de modulation de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra) ou l'amplitude rf de la lentille S (TSQ Vantage), et les tensions appliquées à l'optique ionique jusqu'à ce que la transmission des ions de votre analyte soit optimale. Pour une optimisation personnalisée, vous pouvez choisir lequel des réglages ci-dessus le TSQ optimise.

La configuration optimale de ces réglages dépend du débit du solvant et de la structure de l'analyte. En général, vous devez modifier les réglages du spectromètre de masse chaque fois que les conditions de débit du solvant de l'application changent.

Remarque Vérifiez que le réglage et l'étalonnage du spectromètre de masse TSQ ont été réalisés dans les trois mois précédant l'optimisation des réglages pour le composé. Si vous devez régler et étalonner le système, suivez la procédure décrite dans le Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse ».

Pour optimiser le spectromètre de masse à l'aide d'un composé en mode APCI/MS/MS, vous devez effectuer les opérations suivantes décrites dans ce chapitre :

1. Configurez la pompe seringue et la vanne de dérivation/d'injection pour l'injection automatique par boucle.
2. Configurez le spectromètre de masse pour un composé spécifique à partir de EZ Tune.

3. Exécutez la procédure d'optimisation automatique des réglages pour le composé choisi afin d'affiner les réglages du spectromètre de masse qui dépendent de ce composé.
4. Enregistrez la nouvelle méthode de réglage.

Contenu

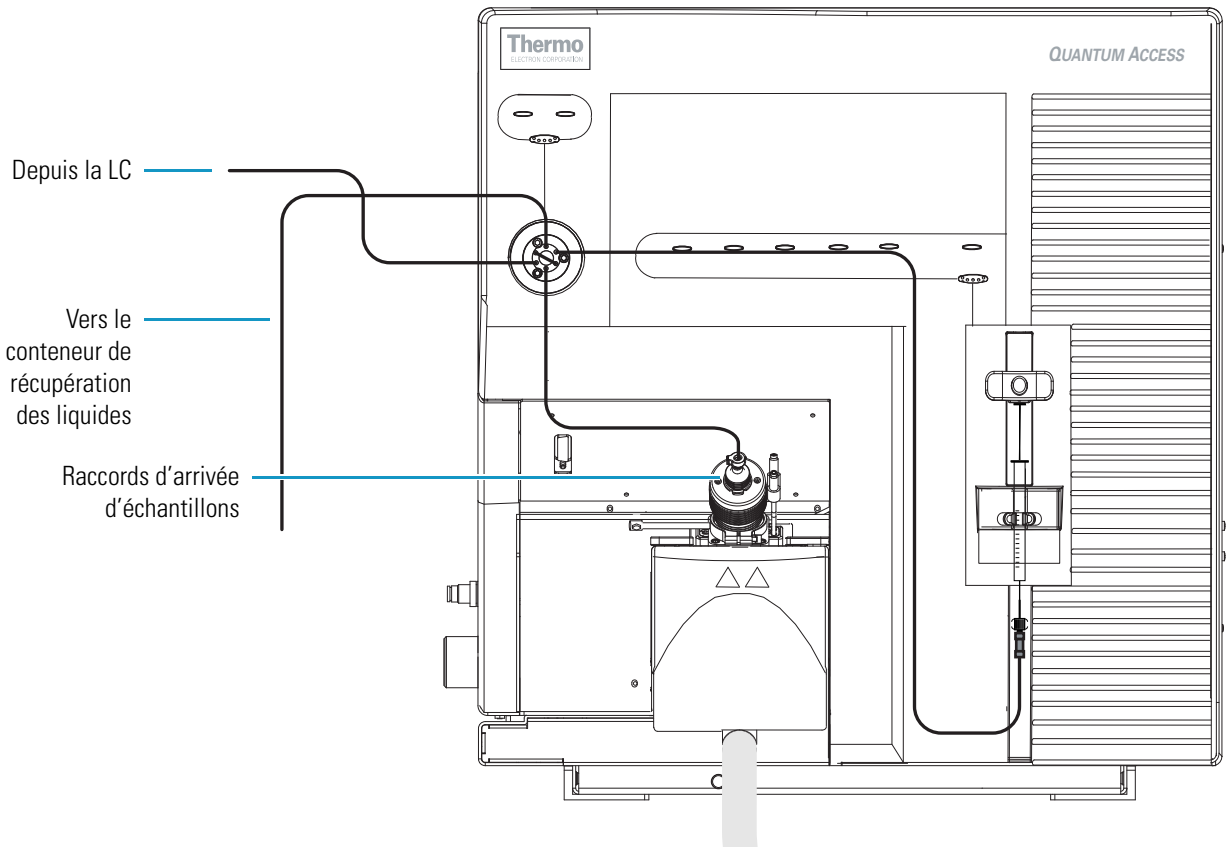
- Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode APCI
- Configuration de l'optimisation en mode APCI/MS/MS
- Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode APCI/MS/MS

Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par boucle d'injection automatique en mode APCI

Pour introduire le composé par boucle d'injection automatique, suivez les procédures ci-après. Les raccordements de tubes pour l'introduction des échantillons APCI/MS de la pompe seringue dans le flux de solvant depuis une LC sont illustrés à la Figure 55.

Remarque Vous pouvez utiliser l'échantillon de réserpine décrit à l'Annexe C, « Préparation de solutions » ou le composé utilisé dans la présente section.

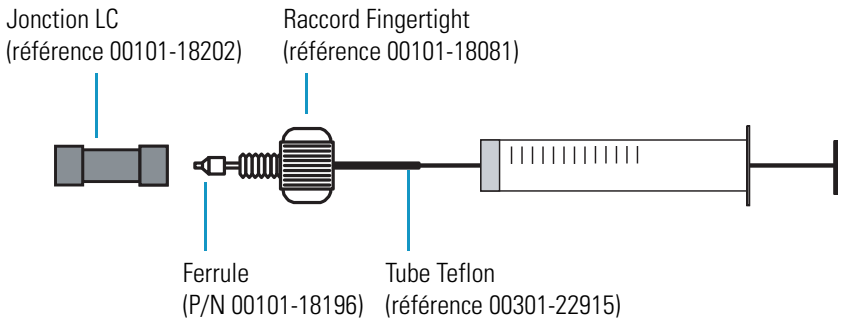
Figure 55. Raccordements APCI/MS pour l'introduction des échantillons par boucle d'injection automatique dans le flux de solvant à partir d'une LC



❖ Pour effectuer les raccordements en vue de l'introduction des échantillons APCI/MS de la pompe seringue dans le flux de solvant à partir d'une LC

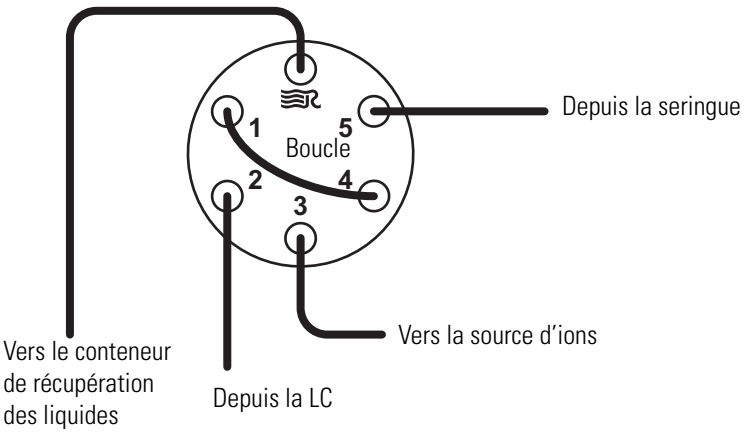
1. Retirez la seringue du porte-seringue :
   a. Soulevez le manche de la seringue tout en appuyant sur le bouton noir du manche de la pompe seringue.
   b. Retirez la seringue.
   c. Retirez l'extrémité de l'aiguille du tube Teflon de l'adaptateur de seringue. Voir la Figure 56.

Figure 56. Seringue et adaptateur de seringue



2. Retirez la ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et la sonde APCI.
3. Installez une ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et la vanne de dérivation/d'injection :
   a. Branchez un tube de longueur adéquate à la jonction LC de l'adaptateur de seringue.
   b. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection. Voir la Figure 57.

Figure 57. Vanne de dérivation/d'injection avec raccordement pour injection automatique par boucle



Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée, utilisez pour la solution de réglage et d'étalonnage une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et la solution d'optimisation.

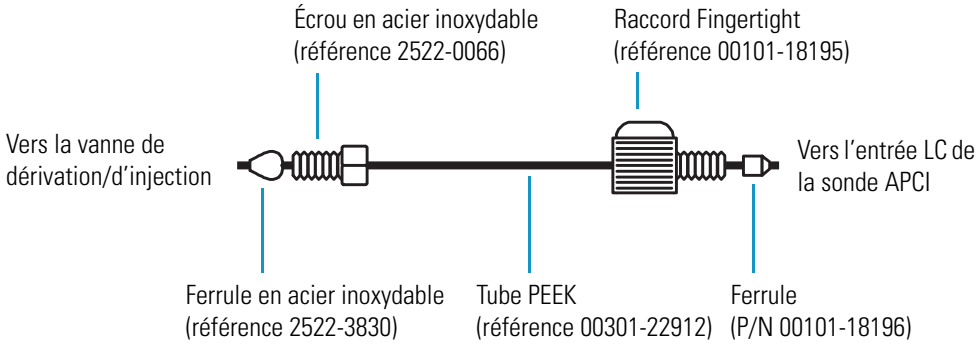
4. Chargez une seringue Unimetrics propre de 500 µl avec 420 µl de solution échantillon de réserpine à 2 pg/µl (TSQ Quantum Access ou TSQ Quantum Access MAX), 200 fg/µl (TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Ultra AM ou TSQ Quantum Ultra EMR) ou de 100 fg/µl (TSQ Vantage,

TSQ Vantage AM, ou TSQ Vantage EMR) ou de votre analyte. Pour la procédure de préparation de la solution de réserpine, voir l'Annexe C, « Préparation de solutions ».

Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée de l'adaptateur, veillez à essuyer l'extrémité de l'aiguille avec un tissu propre et non pelucheux avant de la réinsérer dans l'adaptateur de seringue.

5. Tout en maintenant le piston de la seringue en place, réinsérez avec précaution l'extrémité de l'aiguille dans le tube Teflon de l'adaptateur de seringue (voir la Figure 56).
6. Placez la seringue dans le porte-seringue de la pompe seringue.
7. Appuyez sur le bouton noir du manche de la pompe seringue tout en appuyant sur le manche jusqu'à ce qu'il entre en contact avec le piston.
8. Installez une ligne de transfert des échantillons entre la sonde APCI et la vanne de dérivation/d'injection :
   a. Rassemblez les raccords nécessaires à l'installation de la ligne de transfert des échantillons (voir la Figure 58).
   b. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 3 de la vanne de dérivation/d'injection (voir la Figure 57).
   c. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un raccord Fingertight et d'une ferrule au raccordement d'arrivée des échantillons (arrivée LC) (voir la Figure 55).

Figure 58. Ligne de transfert des échantillons entre la vanne de dérivation/d'injection et la sonde APCI



9. Installez une boucle d'échantillonnage de 5 µl avec des écrous et des ferrules entre les orifices 1 et 4 de la vanne de dérivation/d'injection.
10. Installez une ligne de solvant entre le système LC et la vanne de dérivation/d'injection :
    a. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un raccord et d'une ferrule à l'orifice d'évacuation du système LC.
    b. Branchez l'autre extrémité du tube dotée d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 2 de la vanne de dérivation/d'injection.
11. Installez une ligne de récupération des liquides sur la vanne de dérivation/d'injection et dirigez l'orifice d'évacuation vers un conteneur de récupération des liquides :
    a. Branchez un tube de longueur adéquate doté d'un écrou et d'une ferrule à l'orifice 6 de la vanne de dérivation/d'injection (l'orifice 6 porte le logo Rheodyne).
    b. Insérez l'autre extrémité du tube dans le conteneur de récupération des liquides.

La configuration de l'introduction par boucle d'injection automatique est terminée. Passez à la section « Configuration de l'optimisation en mode APCI/MS/MS ».

Configuration de l'optimisation en mode APCI/MS/MS

❖ **Pour configurer le spectromètre de masse en vue de l'optimisation automatique à l'aide du composé en mode APCI/MS/MS**

1. Dans la barre des tâches Windows, sélectionnez **Démarrer > Tous les programmes > Thermo Instruments > TSQ > TSQ Tune** pour ouvrir la fenêtre EZ Tune.

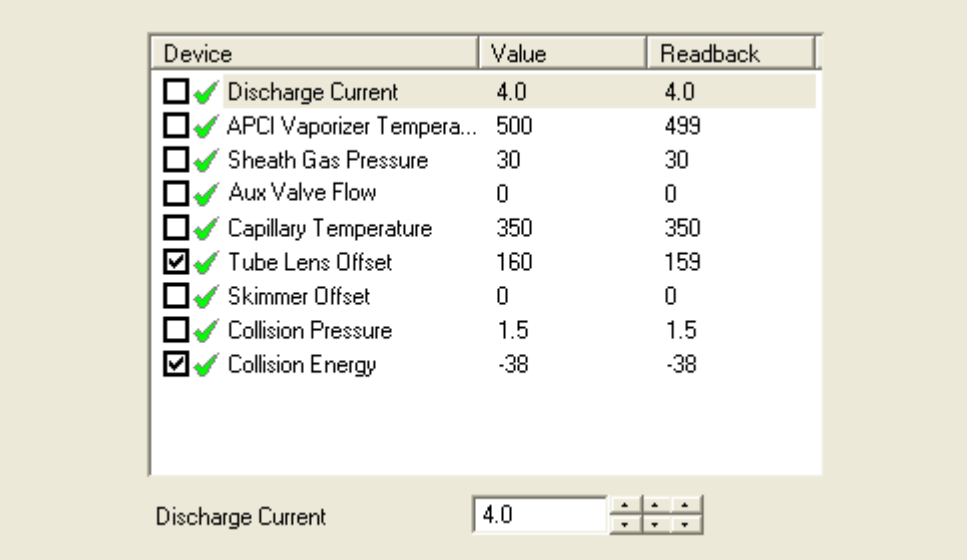
Marche

2. Dans EZ Tune, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse sous tension.

Veille

3. Avant de commencer l'analyse d'échantillons avec la source APCI, vous devez activer le mode source APCI du système TSQ en choisissant **Setup > Change Ion Source > APCI**.
4. Si vous le souhaitez, ouvrez une méthode de réglage existante :
   a. Cliquez sur le bouton **Open File** de la barre d'outils File/Display pour afficher la boîte de dialogue Open.
   b. Vérifiez le chemin, *C:\Xcalibur\methods,* puis sélectionnez le fichier voulu.
   c. Cliquez sur **Open** pour ouvrir le fichier. EZ Tune télécharge les réglages sur le spectromètre de masse.
5. Sélectionnez **Display > Compound Dependent Devices** pour afficher la boîte de dialogue Compound Dependent Devices. Voir la Figure 59.

Figure 59. Réglages APCI de la boîte de dialogue Compound Dependent Devices (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra)



Remarque Il se peut qu'une contamination chimique du vaporisateur APCI crée un bruit chimique dans le spectre de masse. Si tel est le cas, remettez le vaporisateur APCI en condition de fonctionnement correct. Pour cela, lancez le flux de solvant LC, augmentez la température du vaporisateur APCI, ainsi que les pressions du gaz gaine et du gaz auxiliaire pendant environ 30 minutes afin d'éliminer la contamination chimique.

Voici les valeurs habituelles d'un vaporisateur APCI fonctionnant correctement :

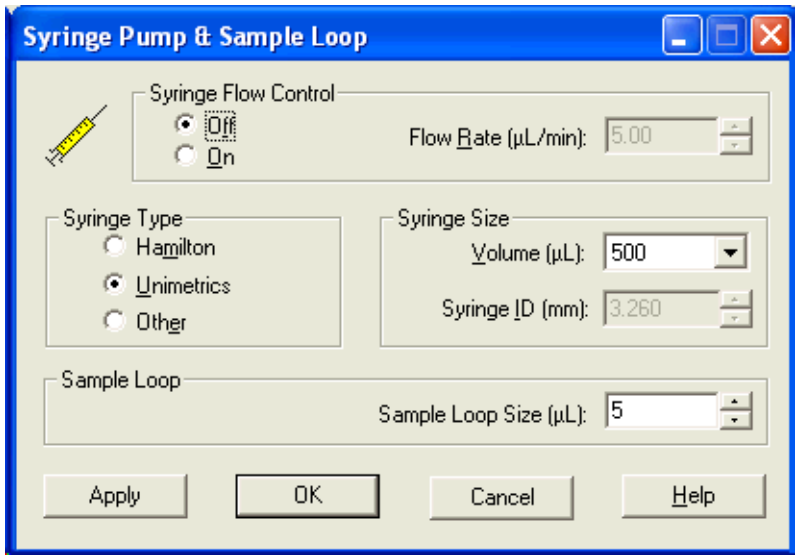
- Débit LC = 400 µl/min
- Température du vaporisateur = 600 °C
- Pression du gaz gaine = 80 unités
- Débit du gaz auxiliaire = 15 unités

6. Définissez les valeurs des dispositifs dépendant du composé :
   a. Vérifiez que l'option **Discharge Current** est sélectionnée (en surbrillance) dans le tableau Device Display.
   b. Dans la boîte de dialogue Optimize Compound Dependent Devices, entrez **4,0** dans la zone Discharge Current afin de fixer le courant de décharge à 4,0 µA.
   c. Réglez la température du vaporisateur APCI sur 350 °C :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **APCI Vaporizer Temperature** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone APCI Vaporizer Temperature, entrez **350**.
   d. Réglez la pression du gaz gaine sur 30 unités :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Sheath Gas Pressure** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone Device intitulée à présent Sheath Gas Pressure, entrez **30**.
   e. Réglez le débit du gaz auxiliaire sur 0 unités :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Aux Valve Flow** pour la mettre en surbrillance.
      ii. Dans la zone Aux Valve Flow, entrez **0** pour régler le débit du gaz auxiliaire sur 0 unités.
   f. Réglez la température du capillaire de transfert des ions sur 200 °C :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Capillary Temperature**.
      ii. Dans la zone Capillary Temperature, entrez **200** pour régler la température du capillaire sur 200 °C.
   g. Réglez la fragmentation de la source d'ions (décalage du skimmer) sur 0 :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Skimmer Offset**.
      ii. Dans la zone Skimmer Offset, entrez **0** pour régler l'énergie de collision sur 0 V.
   h. Réglez la pression du gaz de collision sur 1,5 mTorr :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Collision Pressure**.
      ii. Dans la zone Collision Pressure, entrez **1,5** pour régler la pression de collision sur 1,5 mTorr.
   i. Réglez l'énergie de collision sur -38 eV :
      i. Dans le tableau Device Display, sélectionnez l'option **Collision Energy**.
      ii. Dans la zone Collision Energy, entrez **-38** pour régler l'énergie de collision sur -38 eV.
   j. Pour appliquer les réglages, cliquez sur **Apply**.

Vérifiez que les valeurs actuelles du tableau Device Display correspondent approximativement aux valeurs définies. (Il vous faudra peut-être attendre quelques minutes que les températures du capillaire et du vaporisateur se stabilisent aux valeurs définies.)

7. Configurez la pompe seringue de sorte qu'elle injecte automatiquement la solution de réserpine dans la boucle d'échantillonnage :
   a. Choisissez **Setup > Syringe Pump & Sample Loop** pour afficher la boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop dans la partie supérieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 60.

      Figure 60. Configuration de l'injection automatique par boucle dans la boîte de dialogue Syringe Pump and Sample Loop



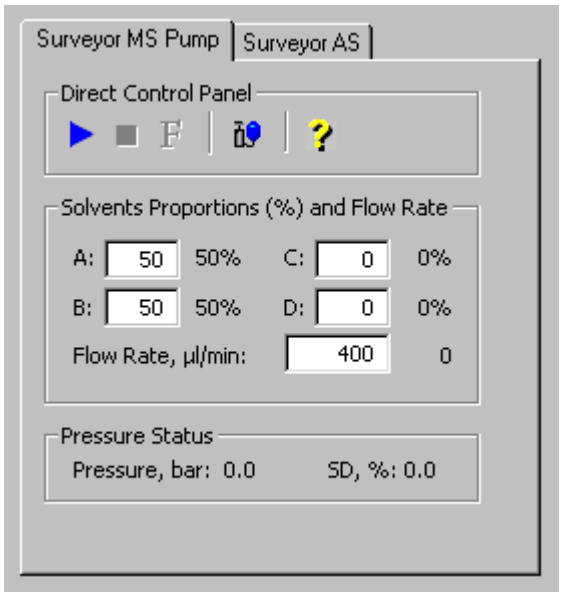
   b. Sélectionnez l'option **Off** dans la zone Syringe Flow Control pour désactiver la pompe seringue.
      - Si vous utilisez une seringue Unimetrics ou Hamilton, allez à l'étape 7c.
      - Si vous *n'utilisez pas* de seringue Unimetrics ou Hamilton, allez à l'étape 7e.
   c. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option qui convient, **Unimetrics** ou **Hamilton**.
   d. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez **500** (ou le volume de la seringue) dans la liste Volume pour indiquer que le volume de la seringue est de 500 µl.

      Lorsque vous indiquez le type et le volume de la seringue, EZ Tune fixe automatiquement l'ID conrrespondant de la seringue. Allez à l'étape 7f.
   e. Si vous n'utilisez pas de seringue Unimetrics ou Hamilton, indiquez manuellement le diamètre intérieur de la seringue comme suit :
      i. Dans la zone Syringe Type, sélectionnez l'option **Other**. Cette option indique que vous utilisez une seringue autre qu'une seringue Unimetrics ou Hamilton ; elle active la zone Syringe ID.
      ii. Dans la zone Syringe Size, sélectionnez le volume correspondant à la seringue dans la liste Volume.
      iii. Dans la zone Syringe ID, entrez le diamètre intérieur de la seringue.
   f. Dans la zone Sample Loop, entrez **5** dans la zone Sample Loop Size pour définir une capacité de boucle de 5 µl.
   g. Pour appliquer ces réglages, cliquez sur **Apply**. La pompe seringue est désormais configurée de sorte à introduire dans la boucle d'échantillonnage la quantité d'échantillon appropriée.

8. Démarrez le flux de solvant :

   a. Choisissez **Setup > bouton Inlet Direct Control** pour ouvrir la boîte de dialogue Inlet Direct Control. Voir la Figure 61.

   Figure 61. La pompe est désactivée dans la boîte de dialogue Inlet Direct Control.



Remarque La procédure suivante part du principe que les bouteilles étiquetées A et B contiennent respectivement de l'alcool isopropylique et de l'eau de qualité LCMS.

   b. Configurez la pompe MS Surveyor de sorte qu'elle fournisse une solution composée de 50 % d'alcool isopropylique et de 50 % d'eau à 400 µl/min :

      i. Dans la zone Solvents Proportions (%) and Flow Rate de la boîte de dialogue Inlet Direct Control, tapez **50** dans la zone *A* pour indiquer une proportion de 50 % de solvant A.

      ii. Dans la zone *B,* tapez **50** pour indiquer une proportion de 50 % de solvant B.

      iii. Dans la zone Flow Rate, tapez **400** pour définir un débit de 400 µl/min.

   c. Dans la zone du panneau de commande directe, cliquez sur ▶ (Démarrer) pour démarrer la pompe Surveyor MS .

Le système est désormais configuré de sorte à introduire automatiquement la réserpine dans la source d'ions pour optimiser le spectromètre de masse.

Vous allez ensuite optimiser les paramètres dépendant du composé en mode APCI/MS/MS. Passez à la section « Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode APCI/MS/MS ».

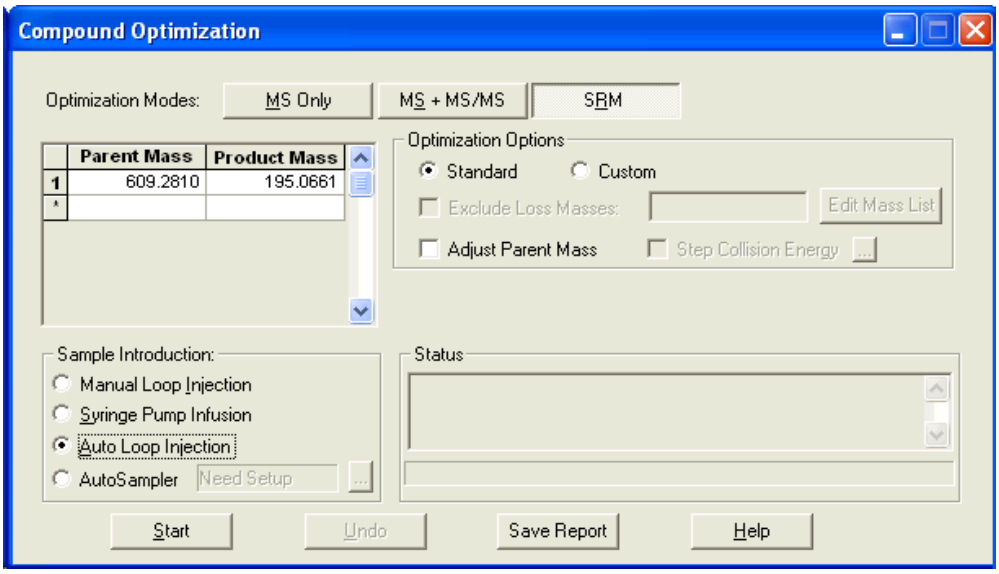
Optimisation automatique à l'aide d'un composé en mode APCI/MS/MS

Pour maximiser la transmission d'ions du composé, optimisez le spectromètre de masse. L'optimisation affine les réglages dépendant du composé tels que le courant de décharge, la température du capillaire et le décalage de la lentille tubulaire. Thermo Fisher Scientific vous recommande d'optimiser le spectromètre de masse uniquement après avoir correctement réglé et étalonné ce dernier.

❖ **Pour optimiser automatiquement le spectromètre de masse en mode APCI/MS/MS pour une transition de réserpine de *m/z* 609,281 à *m/z* 195,066**

1. Dans EZ Tune, choisissez **Setup >, bouton Compound Optimization** pour afficher la boîte de dialogue Compound Optimization. Voir la Figure 62.

Figure 62. Boîte de dialogue Compound Optimization



2. Définissez les réglages d'optimisation afin de surveiller la transition de la réserpine de *m/z* 609,281 à *m/z* 195,066 :
   a. Dans la zone Optimization Modes, sélectionnez **SRM**. Vous pouvez ainsi optimiser une réaction spécifique.
   b. Dans la zone Optimization Options, sélectionnez l'option **Standard** pour régler les dispositifs sélectionnés par défaut. (L'énergie de collision et le décalage de la lentille tubulaire (TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX et TSQ Quantum Ultra) ou l'amplitude RF de la lentille S-lens (TSQ Vantage) sont les dispositifs par défaut dépendant du composé optimisés par le système TSQ si cette option est sélectionnée.)
   c. Dans le tableau Optimization, tapez **609,281** dans la colonne Parent Mass pour définir la masse des ions parents de la réaction SRM à *m/z* 609,281.
   d. Dans la colonne Product Mass, tapez **195,066** pour définir la masse des ions produits de la réaction SRM sur *m/z* 195,066.

   Remarque Vous devez sélectionner le mode d'entrée utilisé pour introduire l'échantillon dans le spectromètre de masse. Cette procédure utilise l'option Auto Loop Injection.

   e. Dans la zone Inlet Types, sélectionnez l'option **Auto Loop Injection** pour que le système TSQ injecte automatiquement la solution d'optimisation.

3. Cliquez sur **Start** pour lancer la procédure de réglage automatique.

Remarque Si la seringue vient à manquer d'échantillon pendant la procédure d'optimisation, l'instrument met le réglage automatique en pause et affiche le message suivant :

Syringe out of sample. Reload and click OK.

Si vous recevez ce message, rechargez la seringue et cliquez sur **OK** pour continuer l'optimisation.

La zone Status de la boîte de dialogue Compound Optimization affiche le message *Finish compound optimization* lorsque l'optimisation est terminée. Voir la Figure 63.

- Si la procédure d'optimisation s'est réalisée sans erreur et que la courbe de dissociation du fragment *m/z* 609,3 est une courbe de Gauss (comme à la Figure 64) ou une courbe lisse à pente positive, allez à l'étape 5.
- Si des erreurs sont survenues pendant la procédure d'optimisation ou si la courbe de dissociation de l'ion *m/z* 609,3 oscille, présente plusieurs pics ou est excessivement bruiteuse, allez à l'étape 4.

Figure 63. Optimisation réussie comme l'indique la zone Status dans la vue l'espace de travail Compound Optimization Workspace

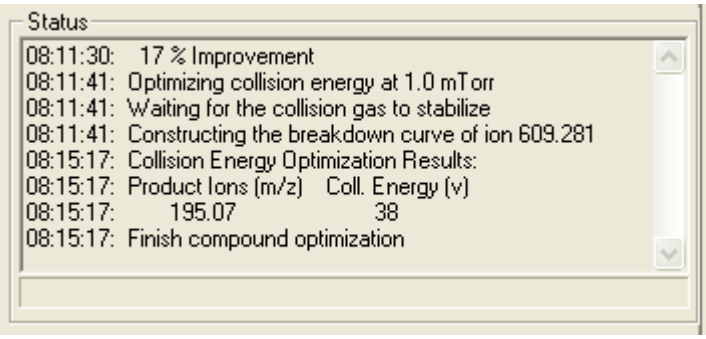
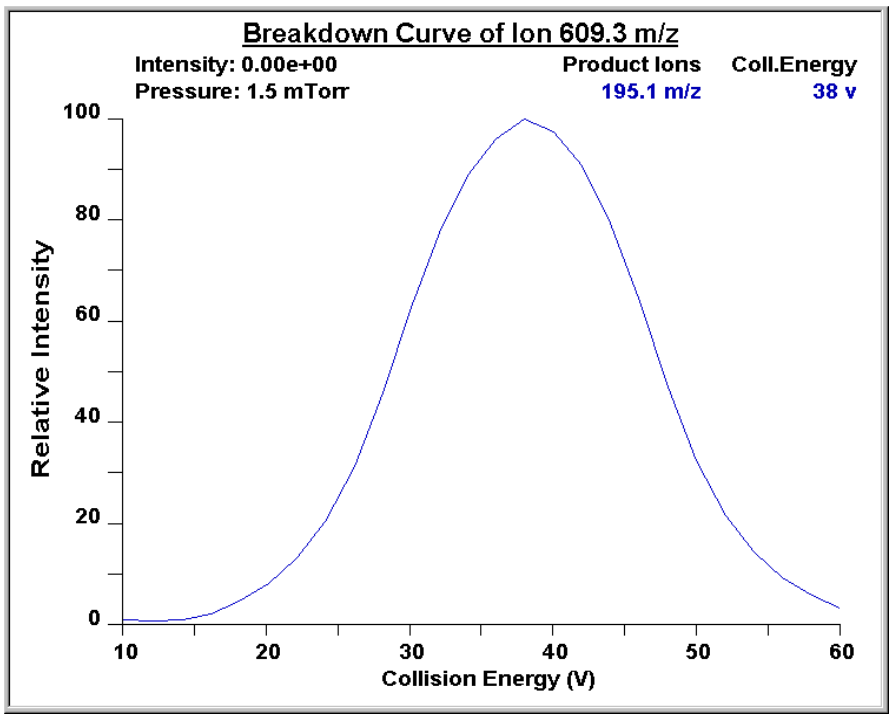

Status
08:11:30: 17 % Improvement
08:11:41: Optimizing collision energy at 1.0 mTorr
08:11:41: Waiting for the collision gas to stabilize
08:11:41: Constructing the breakdown curve of ion 609.281
08:15:17: Collision Energy Optimization Results:
08:15:17: Product Ions (m/z) Coll. Energy (v)
08:15:17: 195.07 38
08:15:17: Finish compound optimization

Figure 64. Courbe de dissociation de la réserpine indiquant l'intensité relative des ions produits à *m/z* 195,066 par rapport à l'énergie de collision



4. Si des erreurs sont survenues pendant la procédure d'optimisation, restaurez les réglages précédents des dispositifs dépendant du composé comme suit :
   a. Cliquez sur **Undo** pour restaurer les réglages précédents des dispositifs.
   b. Cliquez sur **Accept** pour recharger les réglages précédents des dispositifs sur le spectromètre de masse.
   c. Analysez et corrigez les problèmes à l'origine de l'échec de l'optimisation.
   d. Allez à l'étape 3 de cette procédure et relancez la procédure d'optimisation.
5. Cliquez sur **Accept** pour accepter les résultats de l'optimisation.

Remarque Si les réglages de la source d'ions ont été modifiés, enregistrez la méthode de réglage pendant que le spectromètre de masse est sous tension ; dans le cas contraire, ces réglages seront perdus.

6. Enregistrez le fichier de méthode de réglage comme suit
   a. Cliquez sur **Save Tune As** pour ouvrir la boîte de dialogue Save As.
   b. Dans la zone File Name, entrez le nom du fichier de méthode de réglage (tel que **APCI_réserpine.TSQTune** ou le nom du composé utilisé).
   c. Cliquez sur **Save** pour enregistrer le fichier de méthode de réglage.

Le spectromètre de masse est désormais optimisé en mode APCI/MS/MS pour la réserpine (ou le composé utilisé).

Passez à la section Chapitre 8, « Acquisition de données APCI/MS/MS ».

Acquisition de données APCI/MS/MS

Ce chapitre décrit l'acquisition de données à l'aide de Tune Master en mode APCI/SRM. L'expérience ci-après utilise la réserpine, mais vous pouvez suivre la même procédure quel que soit l'analyte.

Contenu

- Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode APCI
- Acquisition de données APCI/MS/MS en mode de balayage SRM

Configuration en vue de l'introduction d'échantillons par injection boucle manuelle en mode APCI

Suivez les procédures ci-après pour introduire des échantillons par injection boucle manuelle dans le flux de solvant à partir d'une LC. Les raccordements de tubes destinés à l'introduction d'échantillons APCI par injection boucle manuelle sont illustrés à la Figure 65.

❖ **Pour réaliser les raccordements de tubes en vue d'une injection par boucle manuelle**

1. Si ce n'est pas déjà fait, ouvrez Tune Master :
   a. Cliquez sur **Démarrer** avec le bouton droit de la souris et choisissez **Explorer**.
   b. Naviguez jusqu'au dossier C:\Thermo Instruments\TSQ\System\Programs.
   c. Cliquez deux fois sur **TSQTune**.
2. Arrêtez le flux de solvant vers la source APCI :

   a. Dans Tune Master, cliquez sur le bouton **AS/LC Direct Control** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour afficher la vue Inlet Direct Control dans la partie supérieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 66.
   b. Dans la zone du panneau de commande directe, cliquez sur (Arrêter) pour arrêter le débit de solvant.

Figure 65. Raccordements APCI/MS pour l'introduction des échantillons par boucle d'injection manuelle dans le flux de solvant à partir d'une LC

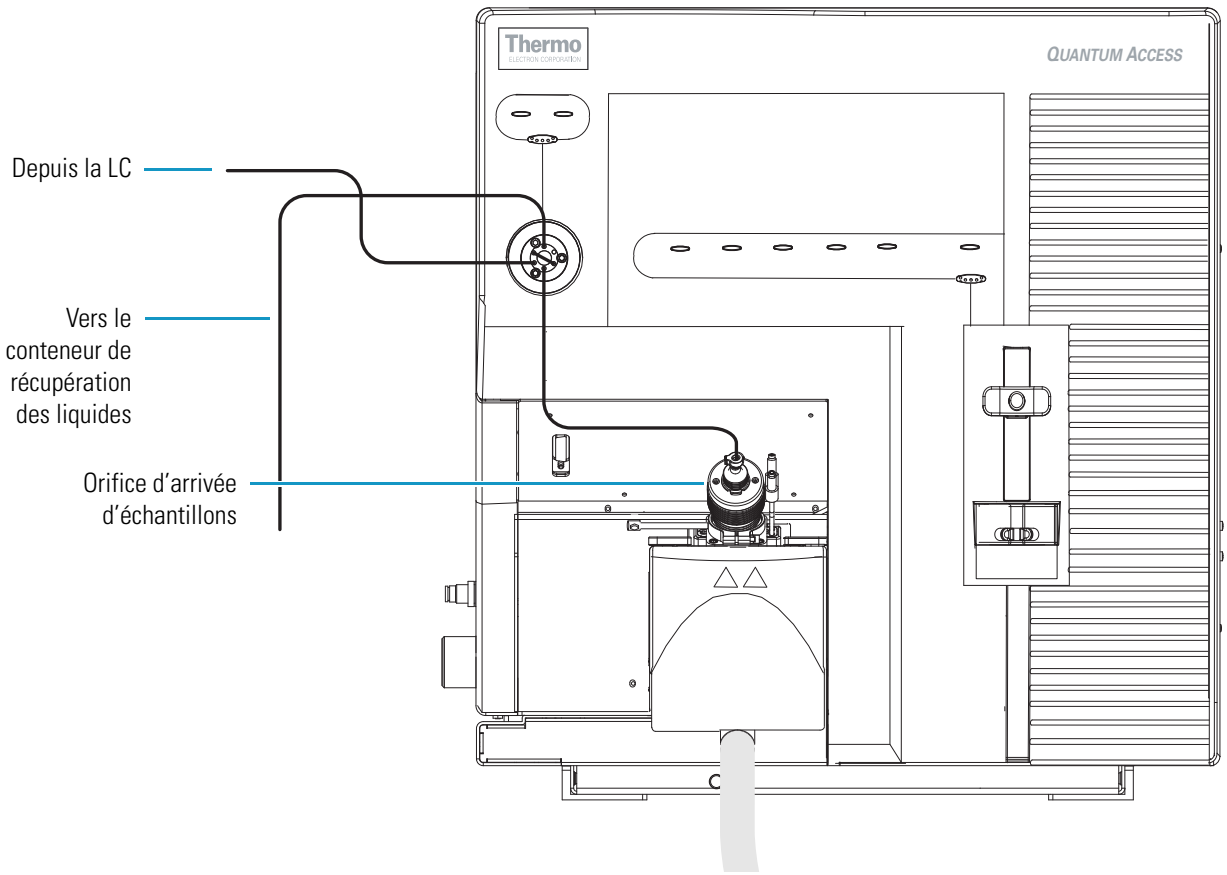
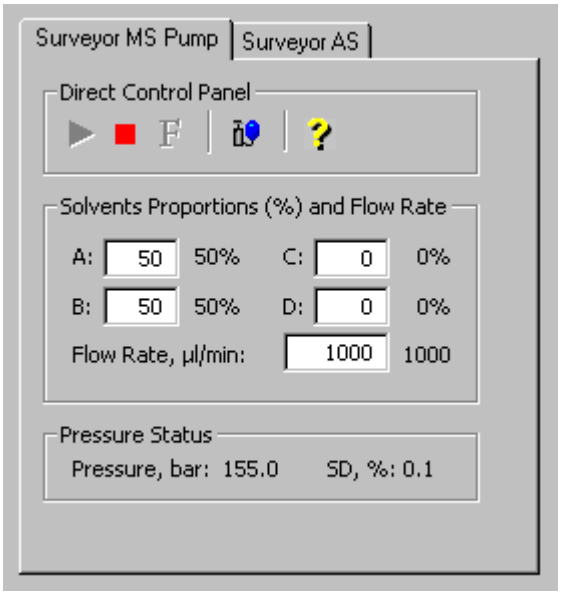


Figure 66. La pompe se trouve dans la vue Inlet Direct Control



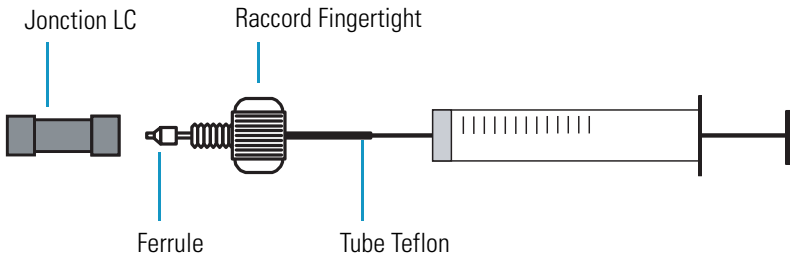
Marche

Veille

3. Cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse en mode veille.

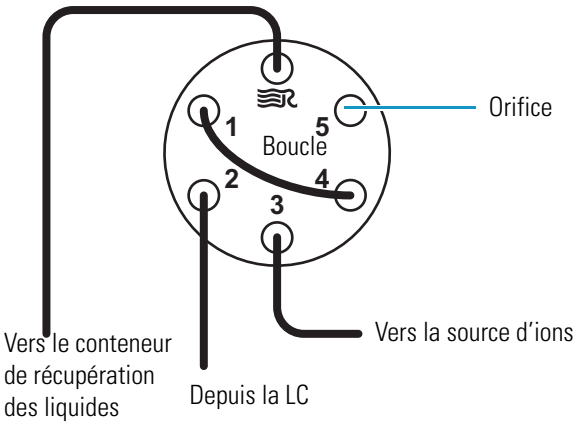
4. Retirez la seringue du porte-seringue :
   a. Soulevez le manche de la seringue tout en appuyant sur le bouton noir du manche de la pompe seringue.
   b. Retirez la seringue.
   c. Retirez l'extrémité de l'aiguille du tube Teflon de l'adaptateur de seringue. Voir la Figure 67.

   Figure 67. Seringue et adaptateur de seringue



5. Retirez la ligne de transfert des échantillons entre l'adaptateur de seringue et l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection. L'orifice 5 constitue désormais l'orifice d'injection. Voir la Figure 68.

   Figure 68. Raccordement pour injection par boucle manuelle dans la vanne de dérivation/d'injection

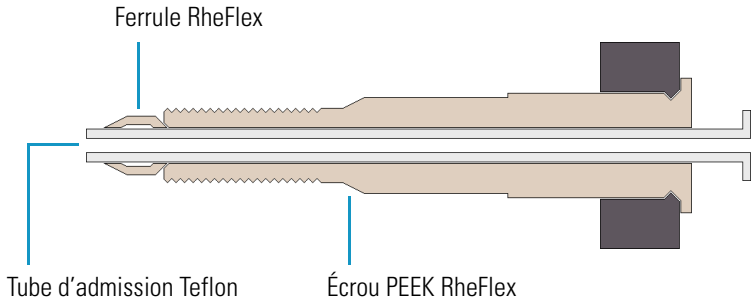


6. Insérez le raccord d'aiguille (référence 00110-22030) dans la vanne de dérivation/d'injection :
   a. Insérez le tube d'admission, la ferrule RheFlex et la partie filetée de l'écrou RheFlex (voir la Figure 69) dans l'orifice 5 de la vanne de dérivation/d'injection.
   b. Serrez manuellement l'écrou avec précaution.

Le spectromètre de masse est désormais configuré pour l'injection par boucle manuelle.

Passez à la section « Acquisition de données APCI/MS/MS en mode de balayage SRM ».

Figure 69. Raccord d'aiguille



Acquisition de données APCI/MS/MS en mode de balayage SRM

❖ **Pour acquérir un fichier de données de réserpine en mode de balayage SRM**

Marche

Veille

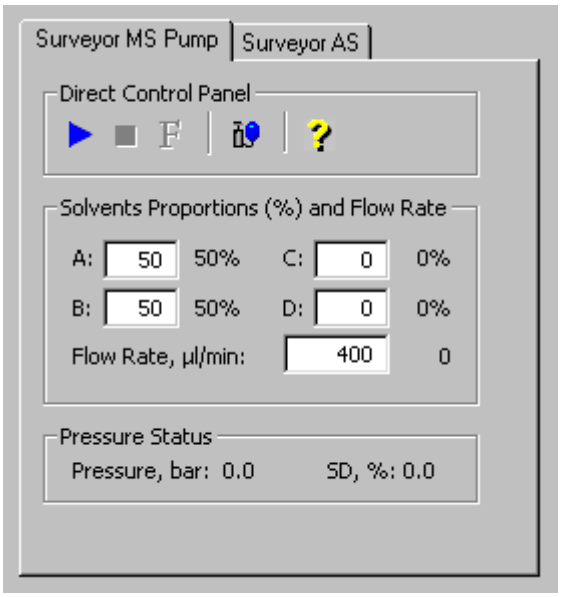
1. Dans Tune Master, cliquez sur le bouton **On/Standby** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour mettre le spectromètre de masse sous tension.
   - Si vous souhaitez acquérir les données avec la méthode de réglage actuellement affichée, allez à l'étape 3.
   - Si vous souhaitez acquérir les données avec une autre méthode que celle affichée, ouvrez d'abord la méthode de réglage souhaitée comme indiqué à l'étape 2.
2. Ouvrez le fichier contenant les réglages de la réserpine ou ceux de l'analyte à utiliser :
   a. Cliquez sur le bouton **Open File** de la barre d'outils File/Display pour afficher la boîte de dialogue Open.
   b. Vérifiez que le dossier *C:\Xcalibur\methods* s'affiche. Sélectionnez le fichier **APCI_reserpine.TSQTune** (ou celui correspondant à la méthode de réglage voulue).
   c. Cliquez sur **Open** pour ouvrir le fichier. Tune Master télécharge les réglages sur le spectromètre de masse.
3. Démarrez le flux de solvant :

   a. Cliquez sur le bouton **AS/LC Direct Control** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour afficher la vue Inlet Direct Control dans la partie supérieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 70.

> **Remarque** La procédure suivante suppose que les bouteilles étiquetées A et B contiennent de l'alcool isopropylique et de l'eau de qualité LCMS.

   b. Configurez la pompe MS Surveyor de sorte qu'elle fournisse une solution composée de 50 % d'alcool isopropylique et de 50 % d'eau à 400 µl/min :
      i. Dans la zone Solvents Proportions (%) and Flow Rate de la vue Inlet Direct Control, tapez **50** dans la zone *A* pour indiquer une proportion de 50 % de solvant A.
      ii. Dans la zone *B,* tapez **50** pour indiquer une proportion de 50 % de solvant B.
      iii. Dans la zone Flow Rate, tapez **400** pour définir un débit de 400 µl/min.

Figure 70. La pompe LC est désactivée dans la vue Inlet Direct Control



c. Dans la zone du panneau de commande directe, cliquez sur ▶ (Démarrer) pour démarrer la pompe Surveyor MS .

4. Cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour ouvrir l'espace de travail Instrument Method Development Workspace. Voir la Figure 71.

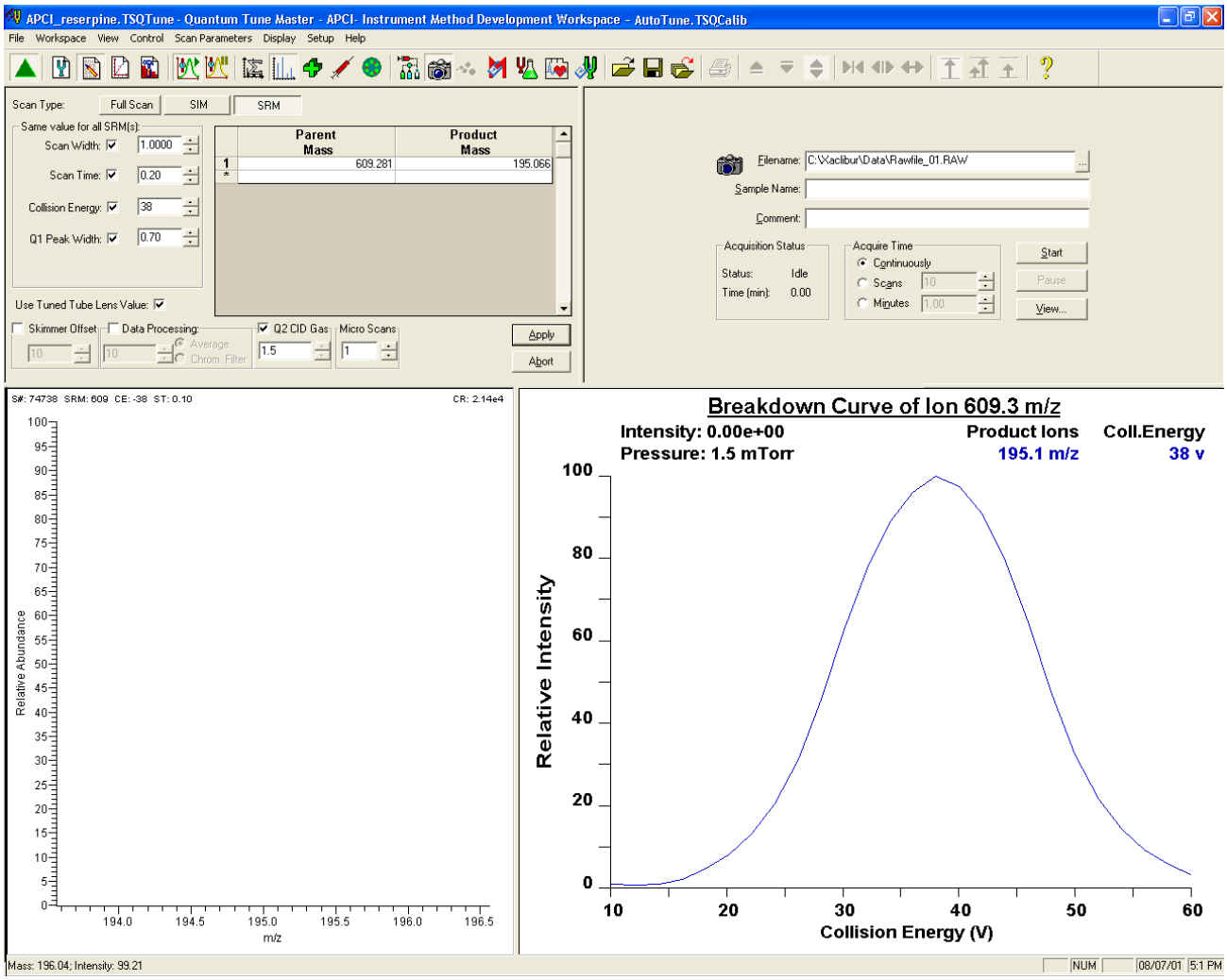
Remarque Si vous avez réalisé une optimisation à l'aide de réserpine comme indiqué au Chapitre 4, les réglages suivants sont sélectionnés par défaut lorsque vous basculez vers l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.

5. Définissez tous les réglages de balayage requis pour l'acquisition de données SRM :

   a. Dans la zone Scan Type de la vue Define Scan située dans la partie supérieure gauche de l'espace de travail, sélectionnez **SRM** comme type de balayage.

   b. Dans le tableau SRM correspondant, vérifiez qu'il n'existe qu'une seule réaction. Entrez la masse de l'ion parent (**609,281**) et la masse des ions produits (**195,066**) de la réserpine.
   -Ou-
   Entrez les masses des ions parents et des ions produits correspondant à l'analyte utilisé.

Figure 71. Espace de travail Instrument Method Development Workspace



Remarque Dans la vue Define Scan, utilisez la zone Same value for all SRM(s) pour sélectionner les réglages généraux de balayage SRM. Un réglage défini comme réglage général aura la même valeur à chaque réaction surveillée. Pour définir un réglage général, cochez la case correspondante et définissez sa valeur dans la zone adjacente.

c. Dans la zone Same value for all SRM(s), assurez-vous que tous les réglages généraux sont sélectionnés. Puis, vérifiez que les valeurs suivantes figurent dans les zones appropriées (ou tapez-les).

   i. Dans la zone Scan Width, entrez **1,000** pour définir la largeur de balayage sur 1,000 u.

   ii. Dans la zone Scan Time, entrez **0,20** pour fixer la vitesse de balayage à 0,20 s.

   iii. Vérifiez que la valeur de la zone Collision Energy est d'environ 38, c'est-à-dire la valeur entrée avant l'optimisation. (L'optimisation automatique risque d'avoir modifié la valeur de l'énergie de collision.)

   iv. Dans la zone Q1 Peak Width, entrez **0,70** pour fixer la largeur de pic à 0,70 u.

   v. Dans la zone Q3 Peak Width, entrez **0,70** pour définir la largeur de pic sur 0,70 u.

d. Cochez la case **Use Tuned Tube Lens Value**.

e. Vérifiez que la case **Skimmer Offset** est désélectionnée.

f. Spécifiez l'utilisation d'un filtre de chromatographie de 3 s pour l'acquisition des données :

   i. Cochez la case **Data Processing** pour activer la zone Data Processing et ses options.

   ii. Sélectionnez l'option **Chrom. Filter** pour indiquer l'utilisation d'un filtre de chromatographie.

   iii. Dans la zone Data Processing, entrez la valeur **3** pour indiquer l'utilisation d'un filtre de chromatographie de 3 s.

g. Définissez les réglages de gaz de collision :

   i. Cochez la case **Q2 CID Gas** pour indiquer l'utilisation d'un gaz de collision.

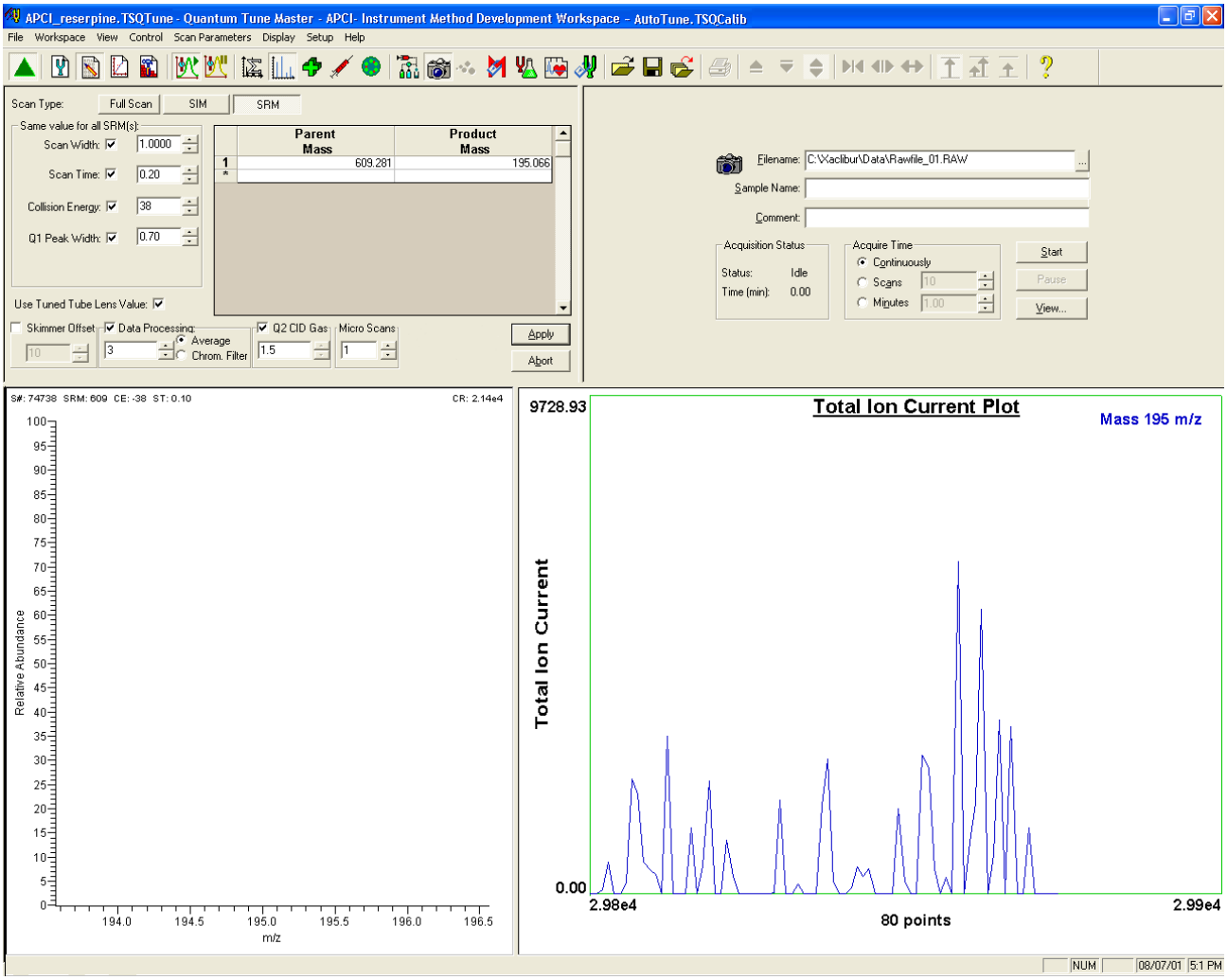
   ii. Dans la zone Q2 CID Gas, entrez **1,5** pour définir le gaz de collision sur 1,5 mTorr.

h. Vérifiez que la zone Micro Scans est définie sur **1**.

6. Cliquez sur **Apply** pour appliquer les réglages de balayage au spectromètre de masse.

7. Cliquez sur le bouton **Display TIC** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour lancer l'enregistrement du courant ionique total dans la vue graphique située dans la partie inférieure droite de l'espace de travail. Voir la Figure 72.

Figure 72. Type de balayage SRM dans l'espace de travail Instrument Method Development Workspace



8. Indiquez les réglages d'acquisition :
   a. Dans la vue Acquire Data située dans la partie supérieure droite de l'espace de travail, entrez le nom et le chemin de fichier **C:\Xcalibur\Data\reserpine_01.raw** dans la zone Filename. (Si vous le souhaitez, cliquez sur le bouton Parcourir ... pour sélectionner un autre dossier.)
   b. Dans la zone Sample Name, tapez **réserpine** (ou entrez le nom de l'analyte utilisé) pour préciser la nature de l'échantillon.
   c. Dans la zone Comment, tapez un commentaire sur l'expérience. Par exemple, tapez **SRM, APCI, 10 pg, boucle** pour indiquer le mode de balayage, le mode d'ionisation, la quantité d'échantillons et la méthode d'introduction des échantillons. Xcalibur inclut le commentaire sur les copies imprimées des données.
   d. Dans la zone Acquire Time, sélectionnez l'option **Continuously** pour indiquer que l'acquisition des données est continue jusqu'à son arrêt.

Charge/Détecteur
Injection/

9. Vérifiez que l'état du bouton **Divert/Inject Valve** de la barre d'outils Control/Scan Mode est Load (Charge). Si l'état du bouton **Divert/Inject Valve** est Inject (Injection) (comme illustré ci-contre), cliquez dessus pour le définir sur l'état Load (Charge).
10. Dans la vue Acquire Data, cliquez sur **Start** pour lancer l'acquisition des données dans le fichier *reserpine_01.raw*. Tune Master ajoute la date et l'heure numériques au nom du fichier si ce dernier existe déjà dans le dossier spécifié. Par exemple :

    C:\Xcalibur\Data\reserpine_010502092159.raw

    Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée, utilisez pour la solution de réglage et d'étalonnage une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et la solution d'optimisation.

11. Remplissez la boucle d'échantillonnage de solution de réserpine :
    a. Vérifiez que la seringue est chargée de 420 µl de solution de réserpine à 2 pg/µl (TSQ Quantum Access ou TSQ Quantum Access MAX), 200 fg/µl (TSQ Quantum Ultra, TSQ Quantum Ultra AM ou TSQ Quantum Ultra EMR) ou de 100 fg/µl (TSQ Vantage, TSQ Vantage AM, ou TSQ Vantage EMR) ou de votre analyte. (Pour la procédure de préparation de la solution de réserpine, voir l'Annexe C, « Préparation de solutions »)

       Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée de l'adaptateur, veillez à essuyer l'extrémité de l'aiguille avec un tissu propre et non pelucheux avant de la réinsérer dans l'adaptateur de seringue.

    b. Insérez avec précaution l'extrémité de l'aiguille dans le tube d'admission Teflon.
    c. Remplissez la boucle d'échantillonnage avec la solution de réserpine de la seringue.
12. Pour injecter la solution de réserpine dans le flux de solvant LC, appuyez sur le bouton bleu Divert/Inject Valve sur le panneau avant du spectromètre de masse TSQ.
13. Dans la vue du spectre, observez le pic des ions produits de la réserpine à *m/z* 195,066 (ou celui de l'analyte utilisé).

14. Recommencez la séquence suivante plusieurs fois pour obtenir des injections par boucle consécutives de réserpine en mode de balayage SRM. Patientez environ 1 minute entre chaque injection.
    a. Appuyez sur le bouton bleu Divert/Inject Valve sur le spectromètre de masse TSQ pour rétablir la vanne de dérivation/d'injection sur l'état Load (Charge). Remplissez la boucle avec la solution de réserpine.
    b. Appuyez de nouveau sur le bouton Divert/Inject Valve pour injecter la solution de réserpine dans le flux de solvant LC . Puis observez la vue du spectre.
    c. Patientez 1 minute avant de procéder à l'injection suivante.
    d. Recommencez les étapes 14a à 14c plusieurs fois.

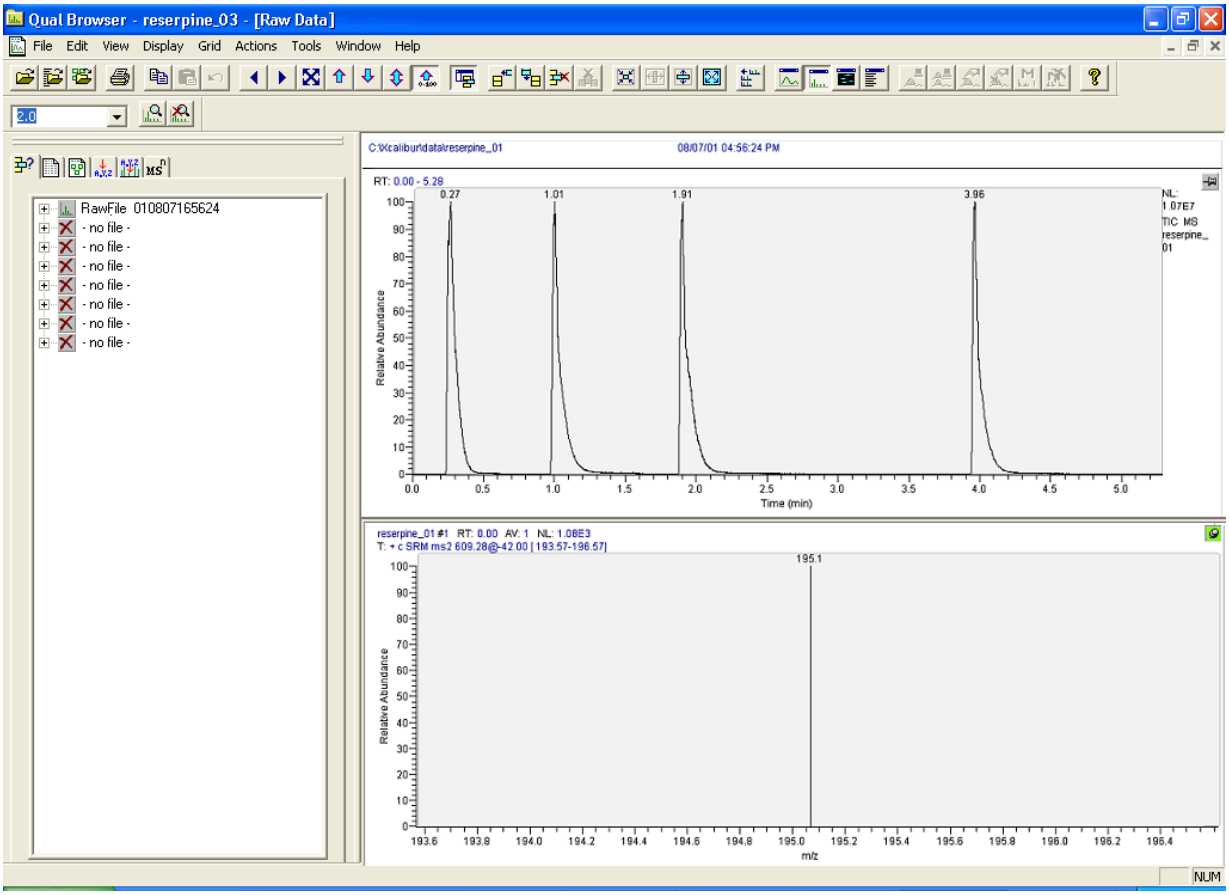
    Remarque Vous pouvez optimiser le réglage en le variant et en répétant l'étape 14.

15. Pour terminer l'acquisition des données, cliquez sur **Stop** dans la boîte de dialogue Acquire Data.

    Un fichier de données de réserpine en mode de balayage SRM est désormais stocké sur le disque dur.

16. Pour intégrer le chromatogramme dans le fichier brut que vous venez d'acquérir à l'aide de la fenêtre Xcalibur Qual Browser, cliquez sur **View**. Voir la Figure 73.

Figure 73. Injections boucle de réserpine dans la vue Chromatogram (haut) et données en centroïde à *m/z* 195,066 dans la vue du spectre (bas) dans la fenêtre Qual Browser



Étalonnage en masse élevée

Les instruments TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX, TSQ Quantum Ultra EMR et TSQ Vantage EMR peuvent fonctionner à des gammes de masses élevées (*m/z* 1 500 à 3 000). Pour obtenir une précision de masse et une force de signal optimales, vous devez effectuer un étalonnage en masse élevée sur ces instruments outre l'étalonnage automatique décrit au Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse ». La procédure d'étalonnage en masse élevée suppose l'optimisation des réglages des lentilles pour les pics de masse élevée, un étalonnage de masse et l'enregistrement du fichier d'étalonnage pour la polytyrosine. La procédure utilise le calibrant Ultramark 1621.

❖ **Pour effectuer l'étalonnage en masse élevée des instruments TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX, TSQ Quantum Ultra EMR et TSQ Vantage EMR**

1. À l'aide de Tune Master, effectuez la procédure standard automatique de réglage et d'étalonnage décrite dans le Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse ».
2. Enregistrez le fichier de réglage sous le nom *Réglage ESI polytyrosine .TSQTune* et le fichier d'étalonnage sous le nom *Étalonnage ESI polytyrosine .TSQCalib*.

3. Cliquez sur le bouton **Compound Optimization Workspace** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour afficher l'espace de travail Compound Optimization Workspace.
4. À l'aide de la liste Device et de la zone Device situées dans la partie supérieure droite, définissez les réglages de la source d'ions sur les valeurs suivantes :
   - Tension du spray : 4000 V
   - Pression du gaz gaine : 0 à 3 unités
   - Pression du gaz auxiliaire : 0 unité
   - Température du capillaire : 270 °C
   - Température du vaporisateur HESI-II : 0 °C
   - Tension de la lentille tubulaire : 70 V
   - Décalage du skimmer : 0 V

❖ Pour effectuer un étalonnage en masse élevée en polarité ions positifs

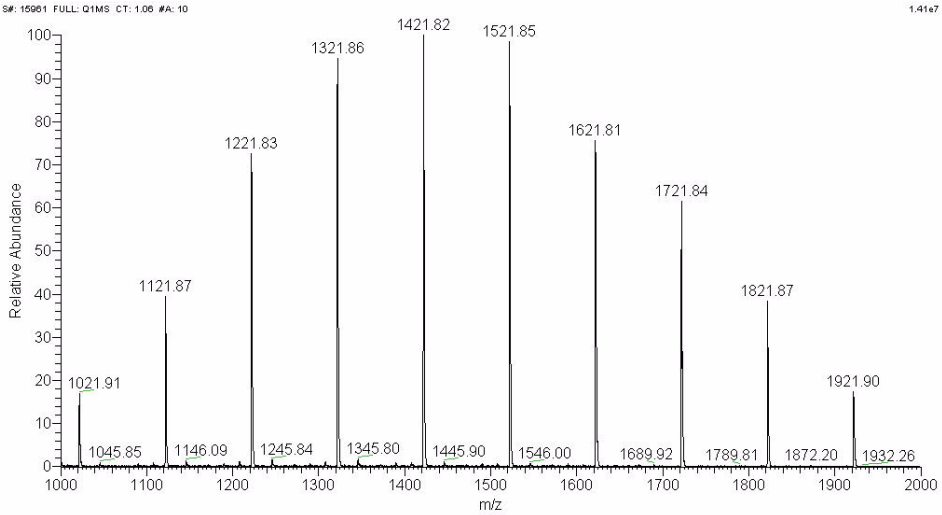
Polarité ions positifs

Polarité ions négatifs

1. Définissez le spectromètre de masse sur la polarité ions positifs. (Vérifiez que le bouton Polarity se trouve en polarité ions négatifs.)
2. Perfusez le calibrant Ultramark 1621 à un débit de 1 à 3 µl/min.
   a. Chargez une seringue propre de solution d'étalonnage Ultramark 1621 et insérez la seringue dans la pompe seringue. Pour préparer la solution d'étalonnage Ultramark 1621, se reporter à la section « Solution d'étalonnage en masse élevée Ultramark 1621 » à la page 112.
   b. Choisissez **Setup > Syringe Pump & Sample Loop** pour afficher la vue Syringe Pump and Sample Loop dans la partie supérieure droite de l'espace de travail.
   c. Entrez ou sélectionnez les réglages pertinents, puis cliquez sur **Apply** pour lancer la perfusion.

En mode Full Scan, le spectre doit ressembler à celui illustré à la Figure 74.

Figure 74. Spectre d'ions positifs Ultramark 1621



Le Tableau 6 répertorie les ions positifs Ultramark 1621.

Tableau 6. Rapports masse/charge des ions positifs Ultramark 1621 (Feuille 1 de 2)

Ions positifs Ultramark ***(m/z)***
822,0162
922,0098
1022,0034
1121,9970
1221,9906
1321,9843
1421,9779
1521,9715
1621,9651
1721,9587
1821,9523

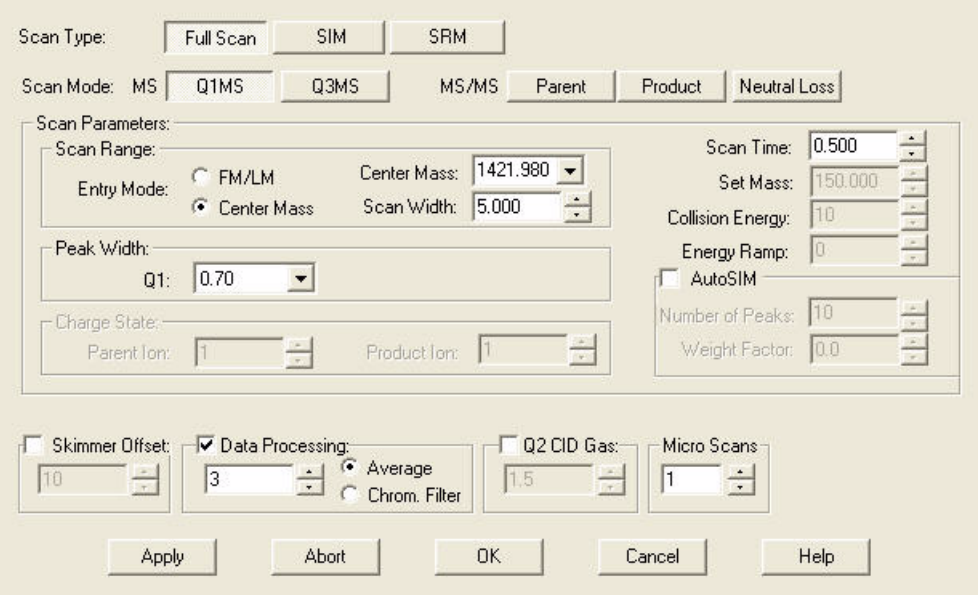
Tableau 6. Rapports masse/charge des ions positifs Ultramark 1621 (Feuille 2 de 2)

Ions positifs Ultramark *(m/z)*
1921,9459
2021,9395
2121,9332

3. Dans Tune Master, cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** de la barre d'outils Control/Scan Mode pour ouvrir l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.

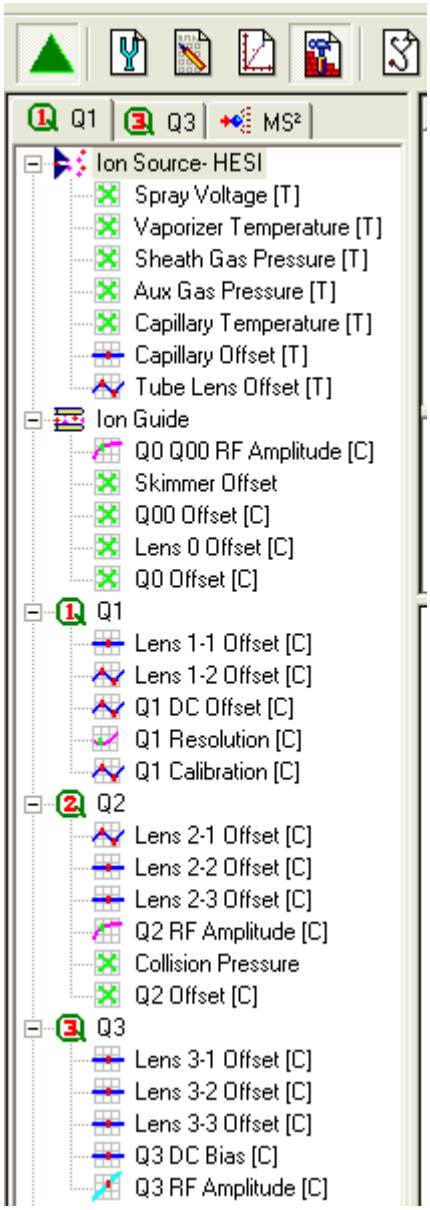
4. Dans la vue Define Scan, définissez les réglages sur les valeurs indiquées à la Figure 75, puis cliquez sur **Apply**.

Figure 75. Réglages dans la vue Define Scan de l'étalonnage en masse élevée en polarité ions positifs



5. Cliquez sur le bouton **Full Instrument Control** pour afficher l'espace de travail Full Instrument Control Workspace.
6. Cliquez sur l'onglet **Q1** de la vue Device. Voir la Figure 76.

Figure 76. Vue Device de l'espace de travail Full Instrument Control Workspace



7. Sélectionnez l'option **Tube Lens Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
8. Sélectionnez l'option **Lens 1-2 Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
9. Sélectionnez l'option **Lens 2-1 Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
10. Cliquez sur l'onglet **Q3** de la vue Device.
11. Sélectionnez l'option **Tube Lens Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.

12. Sélectionnez l'option **Tube Lens Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.

13. Cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** pour afficher l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.

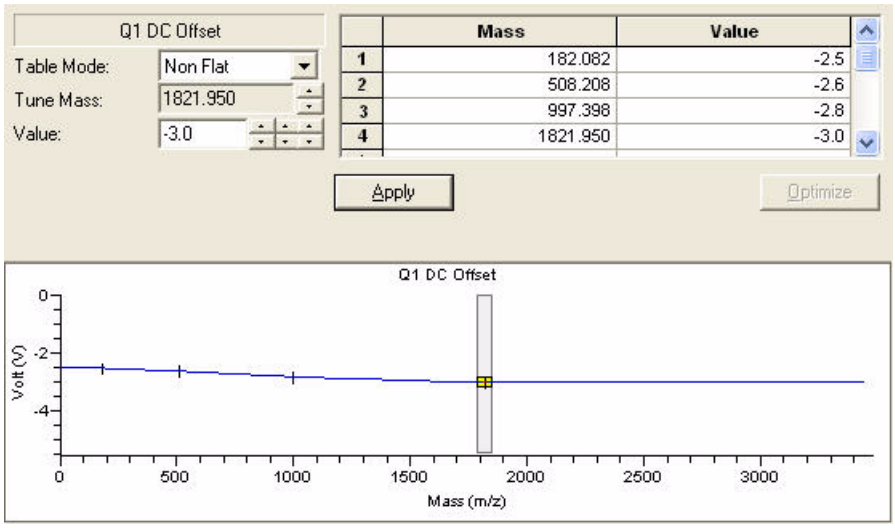
14. Dans la vue Define Scan (voir la Figure 75), sélectionnez **1821,950** dans la zone Center Mass située dans la zone Scan Range. Cliquez sur **Apply**.

15. Recommencez les opérations de l'étape 5 à l'étape 12 pour le pic Ultramark à *m/z* 1821,950. L'intensité du signal doit être supérieure à $1{,}5 \times 10^5$ unités.

16. Cliquez sur l'onglet **Q1** de la vue Device.

17. Sélectionnez l'option **Q1 DC Offset**. Ajoutez -0,2 à la valeur de la masse 997,389 et entrez le résultat (-2,8 + -0,2 = **-3,0** à la Figure 77) dans la zone Value de la masse 1821,950. Cliquez sur **Apply**.

Figure 77. Optimisation du décalage CC Q1 dans la vue Tune Table



18. Cliquez sur l'onglet **Q3** de la vue Device.

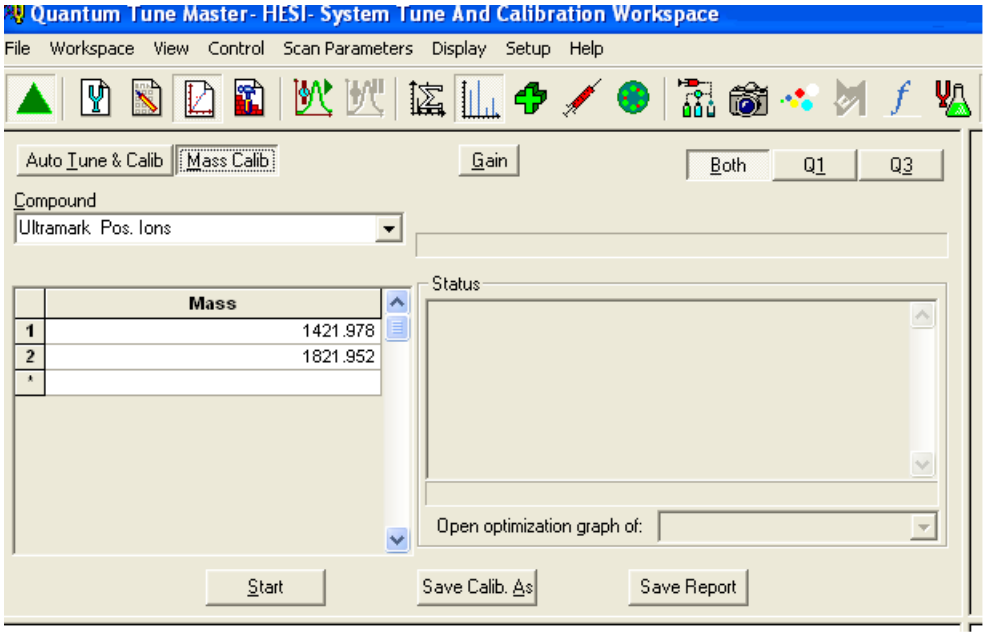
19. Sélectionnez l'option **Q3 DC Offset**. Ajoutez -0,2 à la valeur de la masse 997,389 et entrez le résultat dans la zone Value de la masse 1821,950. Cliquez sur **Apply**.

20. Cliquez sur le bouton **System Tune and Calibration Workspace** pour ouvrir l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace.

21. Sélectionnez **Ultramark Pos. Ions** dans la liste Compound. Voir la Figure 78.

22. Cliquez sur **Mass Calib** et **Both**, puis cliquez sur **Start**.

Figure 78. Sélection des ions positifs Ultramark dans l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace



23. Une fois l'étalonnage terminé, choisissez **File > Save Tune As** pour ouvrir la boîte de dialogue Save Tune File. Enregistrez le fichier d'étalonnage sous le nom **Ions positifs Ultramark.TSQTune**. Cliquez sur **Save**.
24. Choisissez **File > Save Calibration As** pour ouvrir la boîte de dialogue Save Calibration File. Enregistrez le fichier d'étalonnage sous le nom **Ions positifs Ultramark .TSQCalib**. Cliquez sur **Save**.

❖ Pour effectuer un étalonnage en masse élevée en polarité ions négatifs

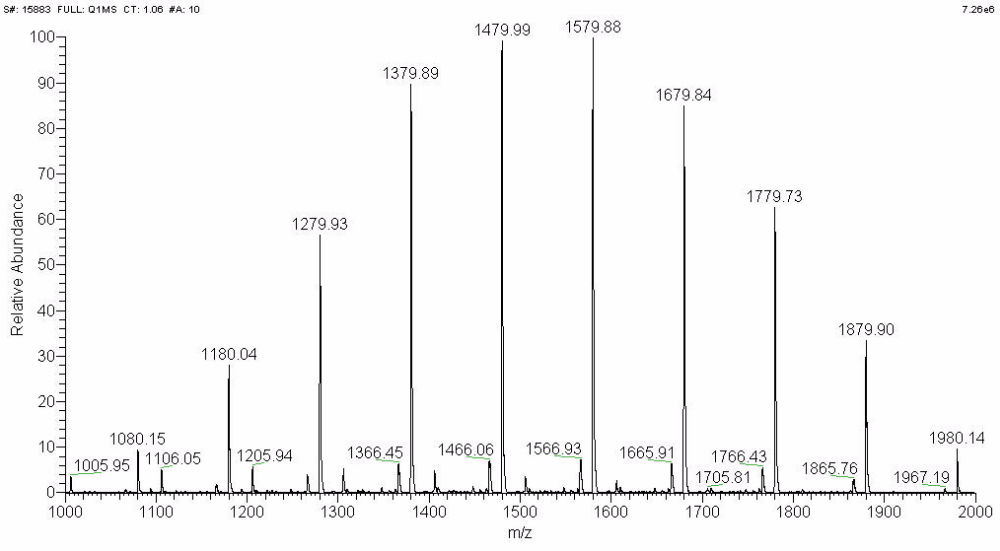
Polarité ions positifs

Polarité ions négatifs

1. Définissez le spectromètre de masse sur la polarité ions négatifs. (Vérifiez que le bouton Polarity se trouve en polarité ions négatifs.)
2. Perfusez le calibrant Ultramark à un débit de 1 à 3 µl/min.

   En mode Full Scan, le spectre doit ressembler à celui illustré à la Figure 79.

Figure 79. Spectre d'ions négatifs Ultramark 1621



Le Tableau 7 répertorie les ions négatifs Ultramark 1621.

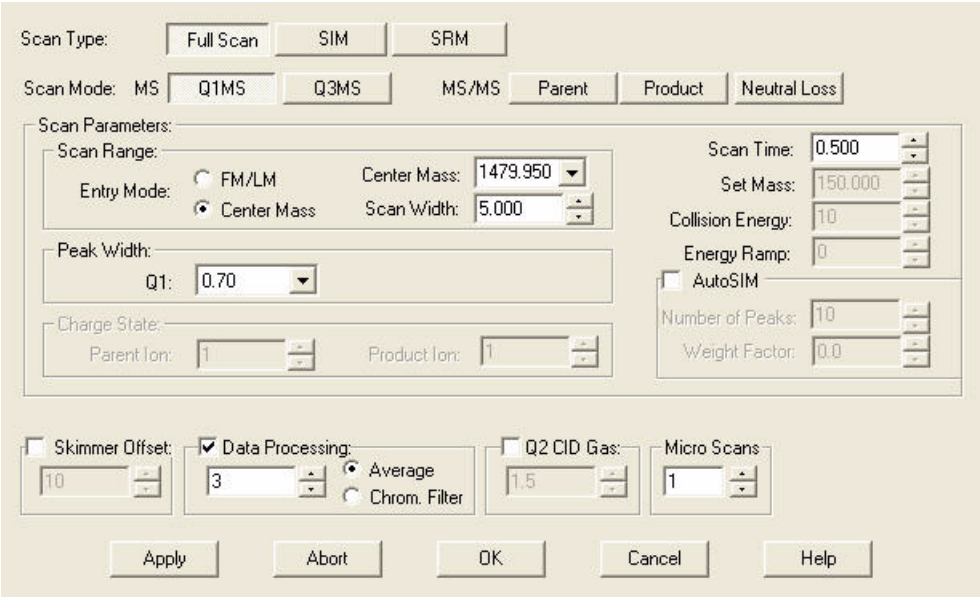
Tableau 7. Rapports masse/charge des ions négatifs Ultramark 1621

Ions négatifs Ultramark *(m/z)*
880,0228
980,0164
1080,0100
1180,0036
1279,9972
1379,9908
1479,9844
1579,9781
1679,9717
1779,9653
1879,9589
1979,9525
2079,9461
2179,9397

3. Cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** pour afficher l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.

4. Dans la vue Define Scan, définissez les réglages sur les valeurs indiquées à la Figure 80, puis cliquez sur **Apply**.

Figure 80. Réglages dans la vue Define Scan de l'étalonnage en masse élevée en polarité ions négatifs



5. Cliquez sur le bouton **Full Instrument Control** pour afficher l'espace de travail Full Instrument Control Workspace.

6. Cliquez sur l'onglet **Q1** de la vue Device.

7. Sélectionnez l'option **Tube Lens Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
8. Sélectionnez l'option **Lens 1-2 Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
9. Sélectionnez l'option **Lens 2-1 Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
10. Cliquez sur l'onglet **Q3** de la vue Device.
11. Sélectionnez l'option **Tube Lens Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.
12. Sélectionnez l'option **Lens 3-3 Offset,** puis cliquez sur **Optimize**. Une fois la procédure d'optimisation terminée, cliquez sur **Accept**.

13. Cliquez sur le bouton **Instrument Method Development Workspace** pour afficher l'espace de travail Instrument Method Development Workspace.
14. Dans la vue Define Scan (voir la Figure 75), sélectionnez **1879,960** dans la zone Center Mass située sous la zone Scan Range. Cliquez sur **Apply**.
15. Recommencez les opérations de l'étape 5 à l'étape 12 pour le pic Ultramark à *m/z* 1879,960. L'intensité du signal doit être supérieure à $1{,}5 \times 10^5$ unités.
16. Cliquez sur l'onglet **Q1** de la vue Device.
17. Sélectionnez l'option **Q1 DC Offset**. Ajoutez +0,2 à la valeur de la masse 995,383 et entrez le résultat dans la zone Value de la masse 1879,960. Cliquez sur **Apply**.
18. Cliquez sur l'onglet **Q3** de la vue Device.
19. Sélectionnez l'option **Q3 DC Offset**. Ajoutez +0,2 à la valeur de la masse 995,383 et entrez le résultat dans la zone Value de la masse 1879,960. Cliquez sur **Apply**.

20. Cliquez sur le bouton **System Tune and Calibration Workspace** pour ouvrir l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace.
21. Dans l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace, sélectionnez **Ultramark Neg. Ions** dans la liste Compound.
22. Cliquez sur **Mass Calib** et **Both**, puis cliquez sur **Start**.
23. Une fois l'étalonnage terminé, choisissez **File > Save Tune As** pour ouvrir la boîte de dialogue Save Tune File. Tapez le nom de fichier **Ions négatifs Ultramark.TSQTune**, puis cliquez sur **Save**.
24. Choisissez **File > Save Calibration As** pour ouvrir la boîte de dialogue Save Calibration File. Sélectionnez le fichier **Réglage ESI polytyrosine.TSQCalib**. Tapez le nom de fichier **Ions négatifs Ultramark .TSQCalib,** puis cliquez sur **Save**.

Étalonnage en masse précise

Outre les procédures standard de réglage et d'étalonnage de tous les instruments TSQ , vous devez également effectuer un étalonnage en masse précise des instruments TSQ Quantum Ultra AM et TSQ Vantage AM pour réaliser la linéarisation de l'axe de masse. Les procédures de réglage et d'étalonnage des TSQ Quantum Ultra AM et TSQ Vantage AM comprennent également un étalonnage en haute résolution pour faciliter l'optimisation de la symétrie de pic. Vous n'avez à réaliser le réglage et l'étalonnage standard et l'étalonnage en haute résolution (Hi Res) qu'après l'arrêt ou la maintenance du système. Toutefois, vous devez effectuer l'étalonnage de masse et l'étalonnage en masse précise selon les besoins pour garantir la précision de l'axe de masse.

Contenu

- Étalonnage en haute résolution
- Étalonnage en masse précise

Étalonnage en haute résolution

Pour obtenir les meilleurs résultats lors de vos expériences de masse précise, optimisez la symétrie de pic. Plus le pic est symétrique, plus le système est en mesure de déterminer le centroïde du pic. Les systèmes TSQ Quantum Ultra AM et TSQ Vantage AM disposent d'une procédure d'étalonnage intégrée à l'application afin d'obtenir une largeur et une symétrie de pic optimales.

❖ **Pour effectuer un étalonnage en haute résolution**

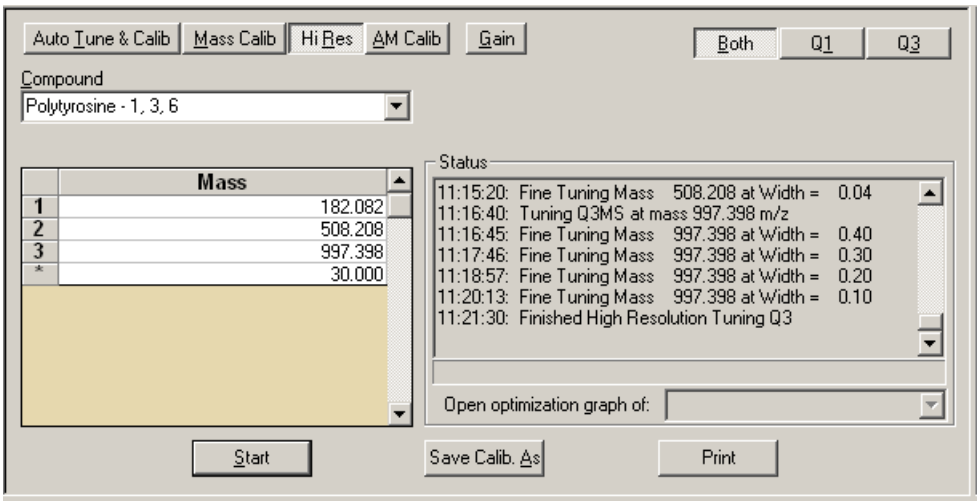
1. À l'aide de Tune Master, effectuez la procédure standard automatique de réglage et d'étalonnage décrite dans le Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse ».

2. Avec la pompe seringue contenant la solution de polytyrosine 1, 3, 6, cliquez sur le bouton **System Tune and Calibration Workspace** pour ouvrir l'espace de travail Tuning and Calibration Workspace.
3. Cliquez sur **Hi Res** pour ouvrir la vue High Resolution Calibration dans l'espace de travail.
4. Cliquez sur **Start**.
5. Surveillez la progression de la procédure de réglage à l'aide de la vue Status. La procédure dure environ 30 minutes.

Remarque L'étalonnage Hi Res est un algorithme qui optimise automatiquement les tensions de décalage CC afin d'obtenir une symétrie de pic optimale pour des résolutions inférieures à 0,5 LMH (largeur à mi-hauteur). Dans certains cas, l'algorithme ne parvient pas à résoudre tous les problèmes. Pour obtenir une symétrie de pic optimale, vous devez alors terminer la procédure de réglage, puis analyser chaque réglage de l'instrument dans l'espace de travail Full Instrument Control Workspace.

6. Une fois la procédure réussie, cliquez sur **Accept** pour appliquer les réglages au spectromètre de masse.
7. Cliquez sur **Save Calib As** pour enregistrer le fichier d'étalonnage. Donnez un nom unique au fichier afin de pouvoir rouvrir les fichiers d'étalonnage antérieurs et postérieurs à ce réglage et analyser les modifications apportées par l'étalonnage Hi Res aux réglages de l'instrument. Voir la Figure 81.

Figure 81. Étalonnage complet de la haute résolution dans la vue High Resolution Calibration de l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace



Étalonnage en masse précise

Avant de commencer les expériences de masse précise, étalonnez l'axe de masse. Vous avez déjà effectué l'étalonnage et le réglage automatiques décrits au Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse », ainsi que l'étalonnage en haute résolution décrit à la section « Étalonnage en haute résolution ». Vous devez à présent réaliser un étalonnage en masse précise en vue de la linéarisation de l'axe de masse. Il n'est pas nécessaire d'effectuer un étalonnage en masse précise avant chaque expérience, car dans un environnement stable, la dérive de l'axe de masse devrait être insignifiante sur des périodes moyennes. Pour garantir la qualité des données, créez plusieurs échantillons de contrôle qualité pour toute la plage de masses. Vous pourrez les utiliser afin de déterminer si un réétalonnage est nécessaire.

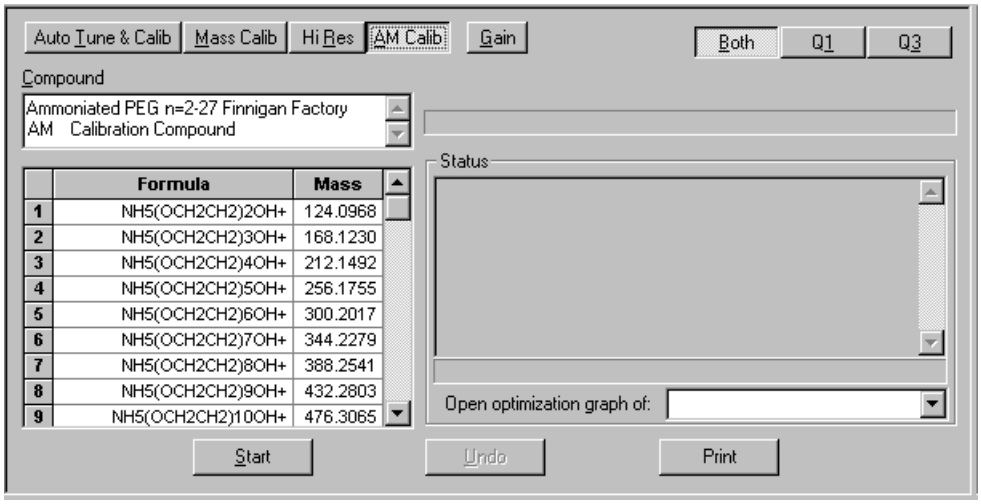
❖ Pour effectuer un étalonnage en masse précise

1. À l'aide Tune Master, effectuez la procédure automatique de réglage et d'étalonnage décrite au Chapitre 3, « Réglage et étalonnage du spectromètre de masse » si ce n'est pas déjà fait.
2. Effectuez la procédure d'étalonnage en haute résolution comme indiqué à la section « Étalonnage en haute résolution » si ce n'est pas déjà fait.
3. Retirez la solution de polytyrosine de la pompe seringue que vous avez utilisée pour le réglage et l'étalonnage.
4. Retirez la ligne de transfert des échantillons et installez un nouveau tube.

   Remarque Pour minimiser les risques de contamination croisée des solutions d'étalonnage, utilisez pour la solution d'étalonnage en masse précise une autre seringue et une autre ligne de transfert des échantillons que celles employées pour les échantillons et les solutions de réglage et d'étalonnage.
5. Faites passer une faible quantité de solution méthanol/eau 50/50 dans les instruments TSQ Quantum Ultra AM ou TSQ Vantage AM.
6. Préparez la solution d'étalonnage en masse précise comme indiqué à la section « Solution d'étalonnage en masse précise » à la page 113.
7. Remplissez une seringue Unimetrics de 500 µl propre de solution d'étalonnage en masse précise.
8. Commencez à perfuser la solution d'étalonnage en masse précise. Patientez plusieurs minutes que le flux et le spray se stabilisent. Il vous faudra peut-être effectuer des ajustements manuels aux masses élevées et faibles (*m/z* 124 et *m/z* 1 268) pour obtenir un spray stable et un signal adéquat.

9. Cliquez sur le bouton **System Tune and Calibration** pour afficher l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace. Voir la Figure 82.
10. Pour afficher la vue AM Calibration dans l'espace de travail, cliquez sur **AM Calib**.
11. Pour sélectionner l'étalonnage de l'axe de masse pour Q1 et Q3, cliquez sur **Both**.
12. Si la liste Ammoniated PEG ne s'affiche pas dans le tableau Calibration Mass, importez-la.
13. Dans la vue Accurate Mass Calibration, cliquez sur **Start** pour lancer l'étalonnage en masse précise.

Figure 82. Vue AM Calibration dans l'espace de travail System Tune and Calibration Workspace



14. Surveillez les résultats dans la vue Status.

> **Conseil** Au début de l'étalonnage en masse précise, l'instrument procède à un balayage bref de chaque masse du tableau Calibration Mass pour vérifier que le signal est suffisant. Profitez-en pour analyser chaque masse et vérifier que la symétrie du pic est correcte. Si la symétrie du pic d'une masse n'est pas adéquate, arrêtez l'étalonnage et effectuez une analyse plus approfondie de l'ion.

15. Une fois l'étalonnage terminé, sélectionnez un graphique d'optimisation dans la liste située sous la zone Status pour afficher les résultats de l'étalonnage.
16. Cliquez sur **Accept** pour accepter l'étalonnage, puis enregistrez le fichier d'étalonnage sous un nom unique.
17. Vérifiez que l'étalonnage a réussi dans les tableaux d'étalonnage.

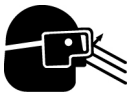
Vous êtes prêt à passer aux expériences de masse précise.

Préparation de solutions

Cette annexe décrit la préparation de solutions de réglage et d'étalonnage pour les gammes de masses normales, élevées et l'utilisation en masses précises. Elle fournit également des instructions sur la préparation de solutions de réserpine utilisées lors de l'optimisation de l'instrument à l'aide d'un composé. Voir les exemples des chapitres 4, 5, 7 et 8.

Contenu

- Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6
- Solution d'étalonnage en masse élevée Ultramark 1621
- Solution d'étalonnage en masse précise
- Solutions de réserpine



MISE EN GARDE ÉVITER TOUTE EXPOSITION À DES SUBSTANCES POTENTIELLEMENT NOCIVES. Porter toujours des gants et des lunettes de protection en cas de manipulation de solvants ou de produits corrosifs. Confiner les flux de liquides usés et utiliser une ventilation adéquate. Se reporter aux fiches techniques santé-sécurité du fabricant pour plus d'informations sur la manipulation d'un solvant spécifique.

Manipuler les produits chimiques et échantillons inconnus avec précaution. **LIRE ET COMPRENDRE LES DANGERS DES PRODUITS CHIMIQUES UTILISÉS DANS LES PRÉPARATIONS CI-APRÈS.** Mettre tous les réactifs et solvants de laboratoire au rebut selon la méthode adéquate.

Les fiches techniques santé-sécurité fournissent un récapitulatif des dangers et de la toxicité de composés chimiques spécifiques. Elles décrivent également la manipulation correcte des composés, les premiers secours à apporter en cas d'exposition accidentelle et les solutions aux débordements et aux fuites. Les fabricants et fournisseurs de composés chimiques ont l'obligation légale de fournir à leurs clients les informations les plus récentes concernant la santé et la sécurité sous forme de fiches techniques santé-sécurité. Lire les fiches techniques santé-sécurité se rapportant à chaque produit chimique utilisé. Des produits chimiques potentiellement dangereux sont utilisés dans les exemples de ce manuel, tels que l'acide acétique, le méthanol et la réserpine.

Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6

Il existe deux procédures de préparation d'une solution de polytyrosine – 1, 3, 6 en vue du réglage et de l'étalonnage du spectromètre de masse.

La première procédure décrit la reconstitution d'une solution à l'aide d'un flacon de 20 ml (référence 00301-22925) contenant les quantités prépesées des composants de la polytyrosine sous forme de poudre (l'aspect est celui d'un résidu). Ce flacon est fourni avec le kit des accessoires.

La deuxième procédure fournit des instructions de préparation de la solution de réglage et d'étalonnage à partir de votre stock de produits chimiques secs.

Le kit des accessoires contient également un flacon de 20 ml de polytyrosine – 1, 3, 6 (référence 00301-22924) en solution ; aucune dilution n'est nécessaire. Les concentrations des composants de cette solution conviennent à une injection immédiate dans le spectromètre de masse.

Le Tableau 8 récapitule les standards de polytyrosine fournis avec le kit des accessoires.

Tableau 8. Standards de polytyrosine fournis avec le kit des accessoires

Description du standard (sur l'étiquette)	Référence Thermo Fisher Scientific	Référence C S Bio Company
Polytyrosine sous forme liquide	00301-22924	CS0272L
Polytyrosine sous forme solide	00301-22925	CS0272S

Préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 à l'aide d'un produit solide prémélangé

❖ **Pour reconstituer une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 à partir d'un flacon de polytyrosine solide**

1. Prenez le flacon de produits chimiques prémélangés de polytyrosine (référence 00301-22925) dans le kit des accessoires.
2. Dissolvez le résidu de polytyrosine dans le flacon pour un volume total de 20 ml dans une solution méthanol/eau 50/50 à 0,1 % d'acide formique. Vous obtenez une solution de 4 ng/µl de tyr, 12 ng/µl de $(tyr)_3$ et 24 ng/µl de $(tyr)_6$.
3. Inscrivez sur l'étiquette du flacon *Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6*, puis placez ce dernier dans un réfrigérateur jusqu'à ce que vous en ayez besoin.

Préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6 à l'aide de produits chimiques secs de votre stock

❖ **Pour préparer une solution de réglage et d'étalonnage de 250 ml de polytyrosine – 1, 3, 6 à partir de votre stock de produits chimiques**

1. Pesez 1 mg de L-tyrosine, 3 mg de $(tyr)_3$ et 6 mg de $(tyr)_6$ et introduisez-les dans un flacon propre et sec de 250 ml.
2. Dissolvez le mélange de polytyrosine dans une solution méthanol/eau 50/50 à 0,1 % d'acide formique pour un volume total de 250 ml. Vous obtenez une solution de 4 ng/µl de tyr, 12 ng/µl de $(tyr)_3$, et 24 ng/µl de $(tyr)_6$.
3. Transférez la solution dans un flacon propre portant une étiquette *Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine – 1, 3, 6*, puis placez-la dans un réfrigérateur jusqu'à ce que vous en ayez besoin.

Le Tableau 9 récapitule les composés utilisés dans la préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage.

Tableau 9. Récapitulatif des produits du stock utilisés pour la préparation de la solution de réglage et d'étalonnage

Composé	Formule	Masse mol.	Fournisseur	Référence du fournisseur
L-tyrosine	$C_9H_{11}NO_3$	181,19	Sigma	T8566
Tyr-Tyr-Tyr	$C_{27}H_{29}N_3O_7$	507,54	Sigma	T2007
$(Tyr)_6$	$C_{54}H_{56}N_6O_{13}$	997,07	Sigma	T1780

Remarque Vous pouvez commander des produits chimiques standard directement auprès de Thermo Fisher Scientific (consultez www.FisherLCMS.com), ou contacter les fournisseurs suivants :

Sigma Chemical Company
P.O. Box 14508
St. Louis, MO, USA 63178-9916
(800) 325-3010 (aux États-Unis ou au Canada)
[1] (314) 771-3750 (hors États-Unis et Canada)

C S Bio Company
1300 Industrial Road
San Carlos, CA, USA 94070
(800) 627-2461 (aux États-Unis ou au Canada)
[1] (650) 802-0880 (hors États-Unis et Canada)

Solution d'étalonnage en masse élevée Ultramark 1621

Procédez comme suit pour préparer une solution d'Ultramark 1621 pour étalonner le TSQ Quantum Access, TSQ Quantum Access MAX, TSQ Quantum Ultra EMR ou TSQ Vantage EMR pour un fonctionnement en plage de masse élevée (*m/z* 1 500 à *m/z* 3 000). La procédure d'étalonnage en masse élevée suppose l'optimisation des réglages de lentilles les pics de masse élevée, un étalonnage de masse et l'enregistrement du fichier d'étalonnage. Voir la section « Étalonnage en masse élevée » à la page 97. La solution d'étalonnage Ultramark 1621 réfrigérée se conserve pendant deux mois.

❖ Pour préparer la solution mère d'Ultramark 1621

1. Obtenir le flacon d'Ultramark 1621 du kit Access MAXory.
2. Utilisez une pipette pour ajouter 100 µl de produit Ultramark 1621 dans une fiole jaugée de 100 ml.
3. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'acétonitrile.
4. Transférez la solution dans une bouteille propre et sèche.
5. Fermez la bouteille et secouez-le pour mélanger la solution.
6. Inscrivez sur l'étiquette *Solution Ultramark 1621.*
7. Entreposez la solution mère dans un réfrigérateur. Cette solution est valable pendant six mois.

❖ Pour préparer 500 ml de solution d'étalonnage en masse élevée Ultramark 1621

1. Prenez une bouteille en verre propre de 1 l.
2. Ajoutez 250 ml d'acétonitrile dans la bouteille en verre de 1 l.
3. Introduisez à l'aide d'une pipette 50 ml de solution Ultramark 1621 dans la bouteille en verre de 1 l.
4. Utilisez une seringue de 1 ml pour transférer 5 ml d'acide acétique glacial dans la bouteille en verre de 1 l. N'utilisez pas de pipette en plastique.
5. Ajoutez 200 ml de solution méthanol/eau 50/50 dans la bouteille en verre de 1 l.
6. Fermez la bouteille et secouez-le pour mélanger la solution.
7. Inscrivez sur l'étiquette *Solution d'étalonnage Ultramark 1621.*
8. Entreposez la solution d'étalonnage dans un réfrigérateur. Cette solution est valable pendant deux mois.

Solution d'étalonnage en masse précise

Pour effectuer un étalonnage en masse précise, la symétrie des pics des composés doit être correcte sur toute la gamme de masses qui permettra d'étalonner l'axe de masse. La procédure d'étalonnage standard utilise des dérivés ammonium de glycols polyéthyléniques (PEG ammoniums) dont les masses sont comprises entre 124 et 1268 u. Vous pouvez modifier la liste ci-dessous et utiliser d'autres composés ou créer une liste personnalisée et réduire la plage de masses à étalonner.

Remarque Les PEG nécessaires à l'étalonnage de votre système sont livrés dans le kit d'accessoires TSQ Quantum Accurate Mass Calibration Compounds (référence 70111-62029). Vous devez fournir de l'acétate d'ammonium et les solvants nécessaires pour effectuer l'étalonnage nécessaire pendant la démonstration de votre système.

Procédures à suivre pour la préparation des solutions suivantes :

- Solution mère de PEG
- Solution d'étalonnage en masse précise

Solution mère de PEG

❖ **Pour préparer une solution mère de 1 000 pmol/µl de PEG dans un mélange méthanol/eau 50/50**

Remarque Tous les réactifs doivent être de classe A.C.S. (American Chemical Society) ou supérieure. La réussite des expériences dépend de la qualité des réactifs.

1. Pesez les PEG répertoriés dans le Tableau 10.

Tableau 10. PEG utilisés pour la préparation de la solution mère

Masse moyenne par mole	Référence Thermo Fisher Scientific	Référence Aldrich	Masse à ajouter
200 g	00301-07712	20,236-3	0,020 g
400 g	00301-07714	20,239-8	0,040 g
600 g	00301-07716	20,240-1	0,060 g
1 000 g	00301-07710	20,242-8	0,100 g

2. Ajoutez les PEG dans une fiole jaugée propre de 100 ml.
3. Dissolvez les PEG dans une solution méthanol/eau 50/50 pour un volume total de 100 ml.
4. Vérifiez que les PEG sont complètement dissous.
5. Inscrivez sur l'étiquette de la bouteille *Solution mère de PEG (1 000 pmol/ml).*

Solution d'étalonnage en masse précise

❖ **Pour préparer 100 ml de la solution mère de PEG ammonium de 50 pmol/µl dans un mélange méthanol/eau 50/50 et d'acétate d'ammonium 5 mM**

1. A l'aide d'une pipette déposez 5 ml de solution mère de PEG dans une fiole jaugée propre de 100 ml.
2. Ajoutez 0,04 g d'acétate d'ammonium (NH_4OAc).
3. Ajoutez la solution méthanol/eau 50/50 pour un volume total de 100 ml.
4. Mélangez cette solution.
5. Inscrivez sur l'étiquette du flacon *Solution d'étalonnage en masse précise (50 pmol/ml)*, puis placez ce dernier dans un réfrigérateur jusqu'à ce que vous en ayez besoin.

Solutions de réserpine

Procédez comme suit pour préparer un stock de solution de réserpine à 2 pg/µl. (Elle peut être utilisée comme solution d'optimisation du TSQ Quantum Access ou TSQ Quantum Access MAX.) Utilisez ensuite les dilutions en série de la solution de base pour réaliser la solution d'optimisation pour le TSQ Quantum Ultra (200 fg/µl) ou le TSQ Vantage (100 fg/µl).

❖ **Pour préparer une solution de réserpine (2 pg/µl)**

1. Préparez une solution de réserpine (1 mg/ml) comme suit :
   a. Ajoutez 100 mg de réserpine dans une fiole jaugée de 100 ml.
   b. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.
2. Préparez une solution de réserpine (10 ng/µl) comme suit :
   a. A l'aide d'une pipette volumétrique, transférez 1 ml de solution (1 mg/ml) dans une fiole jaugée de 100 ml.
   b. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.
3. Préparez une solution de réserpine (100 pg/µl) comme suit :
   a. A l'aide d'une pipette volumétrique, transférez 1 ml de solution (10 ng/ml) dans une fiole jaugée de 100 ml.
   b. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.
4. Préparez une solution de réserpine (2 pg/µl) comme suit :
   a. A l'aide d'une pipette volumétrique, transférez 2 ml de solution (100 pg/µl) dans une fiole jaugée de 100 ml.
   b. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.

5. Transférez la solution dans un flacon propre et sec et étiquetez-le *Stock de solution de réserpine (2 pg/µl)* ou *Solution d'échantillon TSQ Quantum Access MAX (2 pg/µl).*

❖ Pour préparer une solution de réserpine (200 fg/µl)

1. A l'aide d'une pipette volumétrique, transférez 10 ml de solution mère de réserpine (2 pg/ml) dans une fiole jaugée de 100 ml.
2. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.
3. Transférez la solution dans une bouteille propre et sèche ; inscrivez sur l'étiquette *Solution d'échantillon TSQ Quantum Ultra (200 fg/µl).*

❖ Pour préparer une solution de réserpine (100 fg/µl)

1. A l'aide d'une pipette volumétrique, transférez 5 ml de solution mère de réserpine (2 pg/ml) dans une fiole jaugée de 100 ml.
2. Remplissez la fiole jaugée de 100 ml d'une solution de méthanol contenant 1 % d'acide acétique. Mélangez le contenu.
3. Transférez la solution dans une bouteille propre et sèche ; inscrivez sur l'étiquette *Solution d'échantillon TSQ Vantage (100 fg/µl).*

Directives de développement de méthodes instrumentales

Cette annexe fournit des directives de développement de méthodes instrumentales. Les réglages indiqués dans cette section peuvent ne pas s'appliquer directement à votre application car ils sont utilisés par différentes techniques analytiques employant un échantillon de polytyrosine. Lorsque vous développez une méthode instrumentale pour votre application, vous devez d'abord régler l'instrument en optimisant sur votre composé.

Les tableaux ci-après contiennent les réglages de l'instrument à appliquer au spectromètre de masse dans l'espace de travail Instrument Method Development Workspace de Tune Master. Ces réglages permettent d'évaluer immédiatement les performances de l'instrument en fonction de l'analyte avant de créer la méthode. Après avoir obtenu le résultat souhaité dans Tune Master, vous pouvez copier et coller l'événement de balayage dans la fenêtre Instrument Setup.

❖ **Pour copier l'événement de balayage à partir de Tune Master**

Cliquez avec le bouton droit de la souris dans la vue Define Scan (Définir le balayage) de l'espace de travail Instrument Method Development (Développement de la méthode de l'instrument) et sélectionnez **Copy Scan Event (Copier l'événement de balayage)** dans le menu de raccourcis.

❖ **Pour coller l'événement de balayage dans la fenêtre Instrument Setup**

Cliquez avec le bouton droit de la souris dans la page Scan Editor (Éditeur de balayage) de Instrument Setup (Configuration de l'instrument), et sélectionnez **Paste Scan Event (Coller l'événement de balayage** dans le menu de raccourcis.

Tableau 11. Réglages de l'instrument pour un balayage complet Q1MS

Mode d'entrée	Première masse *(m/z)*	Dernière masse *(m/z)*	Temps de balayage (s)	Largeur de pic Q1 (u)	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
FM/LM	150,000	1050,000	0,65	0,70	Désactivé	10 spectres en moy.	Non

Tableau 12. Réglages de l'instrument pour un balayage complet Q3MS

Mode d'entrée	Masse centrale (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
Masse centrale	182,082	6,000	0,20	Désactivé	10 spectres en moy.	Non

Tableau 13. Réglages de l'instrument pour un balayage complet MS/MS

Mode d'entrée	Masse centrale (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse des ions produits (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Largeur de pic Q1 (u)	Largeur de pic Q3 (u)	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID (mTorr)
Masse centrale	182,082	10,000	0,20	136,076	20	0,70	0,70	Désactivé	10 spectres en moy.	0,8*

*La pression du gaz CID Q2 est réduite en mode de balayage MS/MS des ions parents pour préserver la symétrie et la résolution du pic.

Tableau 14. Réglages de l'instrument pour un balayage complet MS/MS des ions produits

Mode d'entrée	Masse centrale (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse des ions parents (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Largeur de pic Q1 (u)	Largeur de pic Q3 (u)	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID (mTorr)
Masse centrale	182,082	10,000	0,20	182,082	18	0,70	0,70	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5

Tableau 15. Réglages de l'instrument pour un balayage complet MS/MS de perte de neutre

Mode d'entrée	Masse centrale (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse de perte de neutre (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Largeur de pic Q1 (u)	Etat de la charge	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID (mTorr)
Masse centrale	182,082	6,000	0,20	17,027	10	0,70	1 (pour Q1 et Q3)	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5

Tableau 16. Réglages de l'instrument pour un balayage SIM Q1MS ou Q3MS

Masse (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Largeur de pic Q1 (u)	Largeur de pic Q3 (u)	Utiliser la valeur de la lentille tubulaire	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
182,082	6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	Non
508,208	6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	Non
997,398	6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	Non

Tableau 17. Réglages de l'instrument pour un balayage SIM MS/MS des ions parents

Masse (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse des ions produits (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Largeur de pic Q1 (u)	Utiliser la valeur de la lentille tubulaire	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
182,082	6,000	0,20	136,076	20	0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	0,8*
508,208	6,000	0,20			0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	0,8*

*La pression du gaz CID Q2 est réduite en mode de balayage MS/MS des ions parents pour préserver la symétrie et la résolution du pic.

Tableau 18. Réglages de l'instrument pour un balayage SIM MS/MS des ions produits

Masse (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse des ions parents (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Largeur de pic Q1 (u)	Utiliser la valeur de la lentille tubulaire	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
136,076	6,000	0,20	182,082	18	0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
165,055	6,000	0,20			0,70	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5

Tableau 19. Réglages de l'instrument pour un balayage SIM MS/MS de perte de neutre

Masse (*m/z*)	Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Masse de perte de neutre (*m/z*)	Largeur de pic (u)	Energie de collision (eV)	Utiliser la valeur de la lentille tubulaire	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
182,082	6,000	0,20	17,027	0,70	18	Oui	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5

Tableau 20. Réglages de l'instrument pour un balayage SRM MS/MS

Largeur de balayage (u)	Temps de balayage (s)	Largeur de pic Q1 (u)	Largeur de pic Q3 (u)	Utiliser la valeur de la lentille tubulaire	Masse des ions parents (*m/z*)	Masse des ions produits (*m/z*)	Energie de collision (eV)	Décalage du skimmer	Traitement des données	Utiliser un gaz Q2 CID
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	182,082	136,076	18	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	182,082	165,055	10	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	508,208	136,076	38	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	508,208	299,140	24	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	997,398	136,076	60	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5
6,000	0,20	0,70	0,70	Oui	997,398	299,140	54	Désactivé	10 spectres en moy.	1,5

Index

A

Acquisition de données
  Tune Master, APCI 87
acquisition de données
  Tune Master, H-ESI 60
Aiguille de Corona
  Blessures (mise en garde) 70
  Installation 70
  Retrait 13
APCI/MS
  Directives (tableau) 7
  Optimisation à l'aide d'un composé 79
  Optimisation à l'aide de la réserpine, exemple 79
  Utilisation, explication 3
Attention xii

C

C S Bio Company, achat de produits chimiques (remarque) 111
Cage du dispositif de chauffage du capillaire, installation (figure) 14
Capillaire (tube de transfert des ions)
  Optimisation de la température 43
  Réglage de la température (tableau) 7
Capillaire de transfert des ions (tube)
  Brûlures (mise en garde) 12, 15
Cône de balayage ionique
  Description 14
  Explication 14
  Installation 14
  Retrait 70
conformité
  CEM iii
  conformité réglementaire iii
  DEEE vii
Conformité à la directive DEEE vii
conformité CEM iii
Contamination
  Seringue
    Nettoyage 41
    Remarque 47, 77
  Système, nettoyage 40
contamination de
  seringue
    remarque 41
Contamination du système, minimisation (remarque) 4

D

Débit
  Mode APCI (tableau) 7
  Mode ESI (tableau) 7
  Mode H-ESI (tableau) 7
Dépannage des problèmes de signal d'ions 34
Documentation xi

E

Échantillon, introduction dans le système
  Méthode 1
  Tableau 4
ESI/MS
  Directives (tableau) 7
  mode changement de la source d'ions (remarque) 22
  Optimisation à l'aide d'un composé 43
  Utilisation, explication 2
Étalonnage en haute résolution 105
Étalonnage en masse élevée
  ESI et H-ESI, réglage 97
  Polarité ions négatifs 102
  Polarité ions positifs 98
étalonnage en masse élevée
  procédure 97, 97
  solution Ultramark 1621, préparation 112
EZ Tune
  Ouverture 27
  Réglage et étalonnage automatiques 27

F

Figure
  Adaptateur de seringue 26, 46, 77
  Boîtier de la source d'ions Ion Max 16, 71
  Boîtier de la source Ion Max-S 18
  Cage du dispositif de chauffage du capillaire, installation 14
  Espace de travail Tune Master
    Compound Optimization 53, 83
    Instrument Method Development Workspace 65, 93
  Ion Max-S 12
  Ions positifs de la polytyrosine 33
  Montage de la source d'ions 17
  Raccordement 26
    Injection automatique par boucle, APCI 76, 88

Injection automatique par boucle, ESI 45
Injection automatique par boucle, HESI-II 46
Injection boucle manuelle, ESI 58
Injection directe, H-ESI 25
Vanne de dérivation/d'injection vers la jonction de mise à la terre 48
Vanne de dérivation/d'injection vers la sonde APCI 78
Vanne de dérivation/d'injection, injection automatique par boucle 47, 77
Vanne dérivation/d'injection, injection par boucle manuelle 59, 89
Sonde APCI 11
Vue Tune Master
Define Scan 30, 33
Inlet Direct Control 52, 82
Optimize Compound Dependent Devices 79
Spectre 34
Syringe Pump and Sample Loop 29, 51, 81
Xcalibur
Qual Browser, fenêtre 66, 95
Figures
Ion Max-S 69
Sonde HESI-II 19

G

Glycol polyéthylénique (PEG), solution 113

H

H-ESI/MS
Directives (tableau) 7
Optimisation à l'aide d'un composé 43
Utilisation, explication 2

I

Injection automatique par boucle
APCI
Raccordement 77
Raccordement (figure) 76
ESI
Raccordement 46
Raccordement (figure) 45
H-ESI
Raccordement 46
HESI-II
Raccordement (figure) 46
Raccordement 45
injection automatique par boucle
ESI
raccordement physique pour 46
HESI-II
raccordement physique pour 46
Injection boucle manuelle, raccordement 58
injection en boucle manuelle
raccordement physique APCI (figure) 58, 88
Injection par boucle
Raccordement 45
Injection par boucle manuelle
APCI
Raccordement (figure) 88
ESI, raccordement (figure) 58
Interface utilisateur
Tune Master
Acquisition de données 60, 90
Bascule entre les modes ESI et APCI 79
Contrôle direct du système LC Surveyor 60, 90
Enregistrement d'une méthode de réglage 55, 85
Mise du spectromètre de masse en mode veille 10
Mise hors tension du spectromètre de masse 10
Mise sous tension du spectromètre de masse 27
Modification des réglages de la pompe seringue et de la boucle d'échantillonnage 28, 81
Modification manuelle des réglages de balayage 30, 32, 53, 61, 83, 91
Optimisation en mode APCI/MS 83
Optimisation en mode ESI/MS 52, 53, 83
Préparation de l'optimisation 49, 52, 79, 82
Préparation en vue du réglage et de l'étalonnage 27
Réglage et étalonnage en polarité ions négatifs 39
Réglage et étalonnage en polarité ions positifs 35
Xcalibur
Analyse de données, Qual Browser 66, 95
Matériel de référence supplémentaire (remarque) 65
Qual Browser, fenêtre (figure) 65
interface utilisateur
Tune Master
arrêt du spectromètre de masser 67
enregistrement de l'étalonnage 37, 40
placement du spectromètre de masse en veille 67
Ion Max
dépose du boîtier 14
Installation du boîtier 16
Ion Max-S
Boîtier de la source (figure) 18
Figure 12
figure 69
Installation du boîtier 16

M

Masse précise
Étalonnage 106
Étalonnage en haute résolution 105
Solution d'étalonnage, préparation 113
Méthode de réglage, enregistrement
Procédure 55, 85
Remarque 55
Mise en garde
Blessures causées par l'aiguille de Corona 70
Brûlures causées par le capillaire de transfert des ions 12, 15
Brûlures causées par le tube de transfert des ions 70

Brûlures causées par le vaporisateur APCI 12, 15, 70
Pénétration des solvants usés dans le boîtier de la source d'ions 17, 72, 74
Symbole xii
Ventilation de la source ESI 72
Mises en garde de sécurité et autres notices spéciales xi

N

Nous contacter xii

O

Optimisation à l'aide d'un composé
Configuration de la pompe seringue 45, 76
Configuration du spectromètre de masse 49, 79
LC/ESI/MS, mode 43
LC/H-ESI/MS, mode 43
Optimisation de la symétrie du pic 105
optimisation du composé
solutions de réserpine, préparation 114

P

Performance, optimisation 5
Polytyrosine
Polarité ions négatifs, réglage 38
Solution de réglage et d'étalonnage, préparation 110
Spectre des ions positifs (figure) 33
Pompe seringue
Configuration pour l'optimisation à l'aide d'un composé 45, 76
Démarrage 28
Réglages pour la polytyrosine 1,3,6 28
pompe seringue
configuration du matériel pour réglage et étalonnage 24
Précautions
Danger de brûlure par le vaporisateur HESI-II 68
Pression du gaz auxiliaire
Optimisation 6, 6
Optimisation (remarque) 34
Réglage (tableau) 7
Pression du gaz gaine
Optimisation 6, 6
Optimisation (remarque) 31, 34
Réglage (tableau) 7
Procédure
Configuration de la pompe seringue pour l'optimisation à l'aide d'un composé 45, 76
Configuration du matériel pour l'utilisation de la sonde APCI 67
Configuration du spectromètre de masse pour l'optimisation à l'aide d'un composé 49, 79
Configuration en vue du réglage et de l'étalonnage 27
Enregistrement d'une méthode de réglage 55, 85
Étalonnage en haute résolution 105
Étalonnage en masse précise 105
Installation de l'aiguille de Corona 70
Installation de la sonde ESI 18
Installation de la sonde H-ESI 18
Installation du boîtier Ion Max 16
Installation du boîtier Ion Max-S 16
Installation du cône de balayage ionique 14
Masse élevée, étalonnage 97
Optimisation à l'aide d'un composé 43
Optimisation à l'aide d'un composé, mode APCI/MS 83
Optimisation à l'aide d'un composé, mode ESI/MS 52
Préparation d'une solution d'étalonnage en masse précise 113
Préparation d'une solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine 110
Réglage et étalonnage automatiques 35
Réglage et étalonnage en polarité ions négatifs 38
Retrait de la source APCI 11
Retrait du cône de balayage ionique 70
procédures
configuration de la pompe seringue pour réglage et étalonnage 24
configuration du matériel pour réglage et étalonnage 9
dépose du boîtier Ion Max 14
préparation de la solution d'étalonnage en masse élevée 112
préparation des solutions de réserpine 114
Produit chimique
Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine
Kit (tableau) 110
Préparation à partir du stock 111
Récapitulatif (tableau) 111
Solution de réglage et étalonnage
Préparation à partir du kit 110
Solution de réserpine préparée à partir du stock 113
produits chimiques
C S Bio Company (remarque) 111
commander (remarque) 111
Sigma Chemical Company (remarque) 111

R

Raccordement
Figure 26
Injection automatique par boucle
APCI (figure) 76, 88
ESI (figure) 45
H-ESI ou HESI-II (figure) 46
Injection directe, ESI (figure) 24
Injection directe, H-ESI (figure) 25
Injection par boucle manuelle
APCI (figure) 88
ESI (figure) 58
Référence 26
Vanne de dérivation/d'injection
Injection automatique par boucle (figure) 47, 77
Injection par boucle manuelle (figure) 59, 89
Vanne de dérivation/d'injection (figure) 48, 78

Réglage et étalonnage
  Automatisation, procédure 35
  Étalonnage en haute résolution 105
  Étalonnage en masse élevée 97
  EZ Tune 27
  Ions positifs de la polytyrosine (figure) 33
  Masse précise 105, 106
  Polarité ions négatifs 38
  Polytyrosine (solution)
    Préparation 110
    Récapitulatif (tableau) 111
  Récapitulatif du kit (tableau) 110
  Solution
    Optimisation du débit (remarque) 34
réglage et étalonnage
  configurer la pompe seringue pour 24
Remarque
  commander des produits chimiques 111
  mode changement de la source d'ions 22
Remarques
  Configuration de réglages généraux de balayage 62, 92
  Enregistrement d'une méthode de réglage 55, 85
  Matériel de référence supplémentaire 46
  Minimisation de la contamination de la seringue 25, 47, 77
  Minimisation de la contamination du système 4
  Optimisation à l'aide d'un composé 46, 76
  Optimisation de la pression du gaz gaine 31, 34
  Optimisation du débit du gaz auxiliaire 34
  Sélection du mode d'entrée approprié 53, 83
Réserpine
  Acquisition de données APCI 90
  Optimisation à l'aide d'un composé, exemple
    APCI 79
    ESI et H-ESI 49
réserpine
  préparation des solutions 114

S

Seringue
  Adaptateur (figure) 26, 46, 77
  Nettoyage 41
Sigma Chemical Company, achat de produits chimiques (remarque) 111
Solution, préparation
  PEG (glycol polyéthylénique), solution 113
  Solution d'étalonnage en masse précise 113, 114
  Solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine 110
solutions, préparation
  réserpine 114
  solution d'étalonnage en masse élevée 112
  Ultramark 1621 112
Solvant, recommandation 5
Sonde APCI
  Figure 11
  Installation 73
  Retrait 11
Sonde ESI
  Installation 18
Sonde H-ESI
  figure 19
  Installation 18
  réglages (tableau) 6
Sonde H-ESI/MS
  mode changement de la source d'ions (remarque) 22
Sonde HESI-II
  figure 19
  installation 18
  réglages (tableau) 6
Source d'ions
  APCI
    Explication 3
    Raccordement pour injection automatique par boucle (figure) 76
    Raccordement pour injection par boucle manuelle (figure) 88
  Ensemble de montage (figure) 17
  ESI
    Connecteur haute tension (figure) 16, 71
    Explication 2
    Raccord d'azote (figure) 16, 71
    Raccordement pour injection automatique par boucle (figure) 45
    Raccordement pour injection par boucle manuelle (figure) 58
  H-ESI
    Explication 2
    Raccordement pour injection directe (figure) 25
  HESI-II
    Raccordement pour injection automatique par boucle (figure) 46
source d'ions
  ESI
    dépose 67
  Sonde HESI-II
    dépose 67
Système LC
  Débit
    Mode APCI (tableau) 7
    Mode ESI (tableau) 7
    Mode H-ESI (tableau) 7

T

Tableau
  Directive sur les réglages de balayage
    Balayage complet MS/MS des ions parents 118
    Balayage complet Q1MS 118
    Balayage complet Q3MS 118
    Balayage SIM MS/MS de perte de neutre 119
    Balayage SIM MS/MS des ions parents 119
    Balayage SIM MS/MS des ions produits 119

Balayage SIM Q1MS ou Q3MS 119
SRM MS/MS 120
Directives
Mode APCI 7
Mode ESI 7
Mode H-ESI 7
Masses des ions négatifs Ultramark 1621 102
Masses des ions positifs Ultramark 1621 98
Récapitulatif des produits composant la solution de réglage et d'étalonnage de polytyrosine 111
Récapitulatif des standards de polytyrosine fournis avec le kit pour préparer une solution de réglage et d'étalonnage 110
Technique d'introduction des échantillons 4
Tampon, recommandation 5
TSQ Quantum Access MAX, étalonnage en masse élevée 97, 97
TSQ Quantum Ultra EMR, étalonnage en masse élevée 97, 97
TSQ Vantage EMR, étalonnage en masse élevée 97, 97
Tube de transfert des ions (capillaire)
Brûlures (mise en garde) 12, 15
Optimisation de la température 6, 6, 43
Réglage de la température (tableau) 7
Tune Master
Acquisition de données, APCI 87
acquisition de données, H-ESI 60
Optimisation des réglages, APCI 75

U

Ultramark 1621
Masses des ions négatifs (tableau) 102
Masses des ions positifs (tableau) 98
solution d'étalonnage en masse élevée, préparation 112
Spectre des ions négatifs 102
Spectre des ions positifs 98

V

Vanne de dérivation/d'injection
Contournement 1
Mode d'injection, explication 1
Mode de dérivation, explication 1
Raccordement pour injection automatique par boucle
Figure 47, 77
Procédure 45, 76
Raccordement pour injection par boucle manuelle
Figure 59, 89
Procédure 58, 87
Tableau 4
Vaporisateur APCI
Brûlures (mise en garde) 12, 15, 70
Optimisation de la température 6
Température (tableau) 7
vaporisateur APCI
réglage de la température, présentation du 6
Vaporisateur HESI-II
haute température (attention) 68
températures (tableau) 6